

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA GEOGRÁFICA, GEOFÍSICA E ENERGIA



# Avaliação da Potencialidade de Produção de Biogás de Ensilados de Sorgo Doce

João Pedro do Amaral Barbosa

**Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia da Energia e do Ambiente**

**2015**

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA GEOGRÁFICA, GEOFÍSICA E ENERGIA



# Avaliação da Potencialidade de Produção de Biogás de Ensilados de Sorgo Doce

João Pedro do Amaral Barbosa

**Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia da Energia e do Ambiente**

Trabalho realizado sob a supervisão de

Doutor Santino Eugénio Di Berardino (Investigador Principal do LNEG; Professor associado convidado da FCUL)

José Sarreira Tomás Monteiro, PhD (Professor adjunto do Instituto Politécnico de Castelo Branco / Escola Superior Agrária)

**2015**

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar quero agradecer ao meu orientador o Doutor Santino Di Berardino pela oportunidade, orientação e apoio na elaboração desta dissertação.

Quero agradecer ao orientador Doutor José Monteiro e ao Instituto Politécnico de Castelo Branco pela oportunidade de realizar esta dissertação com base no Sorgo Doce e pelo apoio laboratorial.

Agradeço também à Doutora Cristina Oliveira, à Doutora Paula Marques, à Doutora Paula Passarinho, à Doutora Paula Batista, ao Sr. Luís Ramalho, à Dona Graça Gomes e à Dona Natércia Santos, da Unidade de Bioenergia do LNEG que, sem qualquer obrigação, me orientaram e ajudaram constantemente. Agradeço igualmente à Doutora Susana Marques do LNEG pelo fornecimento dos enzimas e do protocolo apropriado para elaborar o pré-tratamento destas.

Um agradecimento especial para a Catarina Marques e a Diana Simões, pela amizade e apoio e pelo facto de que sem elas ainda estaria no laboratório a realizar análises.

Aos meus amigos e colegas: Ricardo Espirito Santo, João Lourenço, Carla Fatela e inúmeros outros cujos nomes de certeza me estou a esquecer, obrigado por tudo.

A toda a minha família, por todo o apoio e compreensão, agradeço do fundo do coração.

Um grande obrigado à Catarina Rosa Nunes por toda a ajuda e motivação, foi como se, de repente, tivesse ganho uma irmã.

Finalmente, sem a Joana Rosa Nunes este trabalho nunca existiria porque muito provavelmente eu não teria chegado ao fim do curso. Como namorada ela deu-me toda a ajuda e motivação possível e imaginária para eu avançar neste trabalho e agora, como esposa, continua a contribuir para o meu sucesso.

## Abstract

The aim of this work was to evaluate the biogas production potential of sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] silage from the Beira Interior region of Portugal. Two sets of anaerobic digestion (AD) experiments were carried out, one in mesophilic conditions and another in thermophilic conditions, in order to compare the biomethane potential (BP) of three varieties of sorghum (Var. 23402, Var. SUGAR T, Var. SUGARGRAZE). Furthermore, the effects of different pre-treatments on the biomass biodegradability were experimented: thermal attack at low-temperature, thermal attack at high-temperature and enzyme pre-treatments.

All the mesophilic experiments performed well, with all varieties exhibiting high methane yield, around 400 m<sup>3</sup>/ton SV added, when compared to other energy crops. The Var. SUGAR T, gave rise to the highest mean daily production of biogas (28,9 ml/day) and best energy yield from the substrate (around 38%), while the other two species ranked around the 33% range. For all three samples, methane percentage was around 67% and hydrogen sulfide reached concentrations of around 200 ppm.

In the thermophilic trials, the enzyme pre-treatment lead to the best results in terms of biogas production, methane percentage (76,7%) and daily methane production (54,1 ml/day), while the remaining pre-treatments and the control reactors performed below their mesophilic counterpart (Var. 23402). Hydrogen sulfide concentration was above 200 ppm in all reactors. The poor performance of the thermophilic tests is attributed to excessive ammonia concentration in the inoculum used, potentially inhibitory of an AD microbial community.

When compared to the mesophilic experiment only the samples submitted to the enzymatic pre-treatment showed an equiparable energy conversion (around 35%) and a methane yield above 490 m<sup>3</sup>/ton SV.

**Keywords:** sweet sorghum, anaerobic digestion, mesophilic, thermophilic, biogas.

## Resumo

O objectivo deste trabalho é avaliar o potencial de produção de biogás a partir de silagem de sorgo doce [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] da região da Beira Interior de Portugal. Foram realizados dois ensaios, um em condições mesofílicas, a fim de comparar as três variedades de sorgo (Var. 23402, Var. SUGAR T, Var. SUGARGRAZE) e outro em condições termofílicas, para testar o efeito de diferentes pré-tratamentos na biomassa: ataque térmico a baixa e a alta temperaturas e um pré-tratamento enzimático.

No ensaio mesofílico todas as variedades tiveram um bom desempenho, especialmente quando comparadas com outras culturas energéticas, com produções de metano de aproximadamente 400 m<sup>3</sup>/ton SV. A Var. SUGAR T obteve os melhores resultados, com a maior produção média diária de biogás (28,9 ml/dia) e a maior percentagem de energia convertida a partir do substrato (cerca de 38%). As outras duas espécies atingiram valores na ordem dos 33%. Para todas as três amostras, a percentagem de metano estava em torno de 67% e a concentração de ácido sulfídrico no biogás resultou num valor baixo, com valores máximos próximos de 200 ppm.

Nos ensaios termofílicos, o pré-tratamento enzimático levou à maior produção total e diária de biogás e metano da experiência (54,1 ml CH<sub>4</sub>/dia, contendo a mais alta percentagem de metano (76,7%), enquanto os restantes pré-tratamentos e os reactores de controlo produziram abaixo do seu homólogo mesofílico (Var. 23402). A concentração de ácido sulfídrico no biogás foi superior a 200 ppm para todos os reactores. O fraco desempenho dos ensaios termofílicos é, possivelmente, devido ao excesso de amónia no inóculo utilizado.

Quando comparado com a experiência em mesofílico apenas o pré-tratamento enzimático mostrou uma percentagem equiparável de energia convertida (cerca de 35%) e uma produção de metano acima de 490 m<sup>3</sup>/ton SV.

**Palavras-chave:** sorgo doce, digestão anaeróbia, mesofílico, termofílico, biogás.

## Índice

Agradecimentos.....	1
Abstract .....	2
Keywords: .....	2
Resumo.....	3
Palavras-chave:.....	3
1. Introdução.....	9
2. Enquadramento.....	9
2.1 Energia .....	9
2.1.1 Ciclo da materia .....	11
2.2 Sorgo Doce.....	11
2.2.1 Sorgo Doce vs. Cana-de-Açúcar .....	12
2.3 Bioetanol .....	12
2.4 Digestão Anaeróbia e Biogás .....	13
2.4.1 Tipos de Reactores .....	15
2.4.2 O pH na digestão anaeróbia .....	18
2.4.3 O pontencial redox nas reacções de digestão anaeróbia .....	18
2.4.4 Carga Orgânica.....	18
2.4.1 Tempo de Retenção Hidráulica e das Bactérias .....	18
2.4.2 A importância do Rácio Carbono/Azoto (C/N).....	19
2.4.1 O papel do Azoto.....	19
2.4.2 Fósforo .....	19
2.4.3 Presença de Metais .....	19
2.5 Pré-Tratamentos .....	19
3. Metodologia .....	22
3.1 Sistema experimental .....	22

3.2	Ensaios efectuados .....	23
3.3	Metodologia do ensaio .....	23
4.	Resultados .....	24
4.1	Características e composição do substrato.....	24
4.2	Características e composição do inóculo .....	26
4.3	Resultados da biodegradação em mesofílico .....	27
4.3.1	Características das amostras após a biodegradação .....	27
4.3.2	Produção e composição do biogás .....	29
4.4	Resultados da biodegradação em termofílico .....	34
4.4.1	Características das amostras antes da biodegradação .....	34
4.4.2	Características das amostras após a biodegradação .....	35
4.4.3	Produção e composição do biogás .....	36
4.5	Potencial Energético.....	41
5.	Conclusões .....	44
6.	Referências.....	45
7.	Anexos.....	47
7.1	Pré-tratamento Enzimático - Protocolo .....	47
7.2	Determinações analíticas.....	47
7.2.1	pH.....	47
7.2.2	Sólidos Totais (ST) e Sólidos Voláteis (SV) .....	48
7.2.3	Sólidos Suspensos Totais (SST) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) .....	49
7.2.4	Carência Química de Oxigénio (CQO) Total.....	50
7.2.5	Azoto Total (Kjeldahl) .....	51
7.2.6	Azoto Amoniacal.....	51
7.2.7	Ácidos Gordos Voláteis (AGV) .....	52

## Índice de Figuras

Figura - 1 Evolução da energia produzida a partir de fontes renováveis em TWh (Fonte: Estatísticas Rápidas DGEG).....	10
Figura - 2 Esquema do possível processo de valorização do sorgo doce.....	13
Figura - 3 Esquema Simplificado da digestão anaeróbia .....	14
Figura - 4 Esquema de um reactor de funcionamento em descontínuo (batch) .....	16
Figura - 5 Esquema de um reactor de funcionamento em contínuo.....	16
Figura - 6 Esquema de um reactor industrial do tipo CSTR (em cima, fonte: <a href="http://www.mannvit.com">www.mannvit.com</a> ); fotografia de uma central de digestão anaeróbia que emprega reactores CSTR (em baixo, fonte: <a href="http://www.wateronline.com">www.wateronline.com</a> ) .....	17
Figura - 7 Esquema do efeito de pré-tratamentos em biomassa lenhocelulósica (Adaptado de Mosier <i>et al.</i> , 2004) .....	20
Figura - 8 Sistema utilizado nos testes de biodegradabilidade .....	22
Figura - 9 Produções médias diárias de biogás (ml) das variedades dos substratos estudados. ....	30
Figura - 10 Volume acumulado do metano produzido e da composição do biogás em CH <sub>4</sub> .....	31
Figura - 11 Produções médias diárias de biogás (em ml) das amostras estudadas .....	38
Figura - 12 Volume acumulado do metano produzido e da composição do biogás em CH <sub>4</sub> .....	39



## Índice de Tabelas

Tabela - 1 Estirpes de bactérias metanogénicas e a sua gama de temperaturas para crescimento óptimo (Gerardi M., 2003) .....	15
Tabela - 2 Características das Estirpes bacterianas em função da Temperatura.....	15
Tabela - 3 Composição físico-química dos substratos .....	25
Tabela - 4 Composição lenho-celulósica dos substratos.....	25
Tabela - 5 Composição físico-química média do inóculo mesofílico utilizado nos ensaios .....	26
Tabela - 6 Composição físico-química média do inóculo termofílico utilizado nos ensaios.....	27
Tabela - 7 Características do substrato no final dos ensaios de biodegradabilidade .....	28
Tabela - 8 Remoção de SV .....	28
Tabela - 9 Composição lenhocelulósica dos efluentes.....	28
Tabela - 10 Degradação lenhocelulósica dos efluentes .....	28
Tabela - 11 Composição do biogás em CO <sub>2</sub> e rácio CO <sub>2</sub> /CH <sub>4</sub> .....	32
Tabela - 12 Composição Média e Máxima de H <sub>2</sub> S .....	32
Tabela - 13 Biogás e metano total produzidos e matéria orgânica degradada .....	33
Tabela - 14 Produção específica média de biogás .....	33
Tabela - 15 Valores da produção específica de CH <sub>4</sub> de diferentes culturas energéticas .....	34
Tabela - 16 Características dos reactores no início dos ensaios de biodegradabilidade.....	34
Tabela - 17 Características do substrato no final dos ensaios de biodegradabilidade .....	35
Tabela - 18 Remoção de SSV e CQO .....	35
Tabela - 19 Composição lenho-celulósica dos efluentes .....	36
Tabela - 20 Degradação dos compostos orgânicos do substrato.....	36
Tabela - 21 Composição do biogás em CO <sub>2</sub> e rácio CO <sub>2</sub> /CH <sub>4</sub> .....	40
Tabela - 22 Composições Médias e Máximas de H <sub>2</sub> S .....	40
Tabela - 23 Biogás total produzido e matéria orgânica degradada .....	41
Tabela - 24 Produção específica média de biogás .....	41
Tabela - 25 Calor específico do bagaço de Sorgo.....	41

Tabela - 26 Energia calorífica estimada dos ensilados .....	42
Tabela - 27 Energia convertida pela produção de bioetanol celulósico.....	42
Tabela - 28 Energia convertida pela produção de biogás em regime mesofílico.....	42
Tabela - 29 Energia convertida pela produção de biogás em regime termofílico.....	42

## 1. Introdução

Este trabalho foi enquadrado num projecto intitulado: Projecto 0186\_AGROCELE\_3\_E, do Programa da EU POCTEP, subcontratação do Instituto Politécnico de Castelo Branco (IPCB), do qual fez parte a avaliação da viabilidade do cultivo do sorgo doce [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] na Beira interior, como substrato de uma cadeia de valorização de bioenergia (bio-etanol, biogás, etc.). O projeto visa agregar valor a solo de baixa qualidade cultivável, utilizando-o para produzir culturas energéticas com alta taxa de crescimento nas condições edafo-climáticas da região de Castelo Branco, que exigem menos nutrientes e recursos (rega) que outras culturas agrícolas. O objectivo principal é estudar todo o ciclo de produção e valorização desta cultura, começando pelo cultivo e pelos os processos mais eficientes em que a cultura deve ser usada, para garantir um máximo aproveitamento dos solos e a sustentabilidade de todo o ciclo. Em suma pretende-se estudar e avaliar a viabilidade de uma biorefinaria de sorgo doce.

Este trabalho tem como objectivo o estudo da digestão anaeróbia do ensilado do sorgo doce, por meio de uma actividade laboratorial conduzindo à avaliação não só do potencial energético da cultura do sorgo doce na Beira Interior mas também da possibilidade de utilizar o efluente digerido para a fertilização e valorização agrícola dos solos utilizados. O foco principal deste trabalho envolve o alcance dos seguintes objectivos:

- Apurar as condições, em termos de estabilidade do sistema e rendimento de conversão, que garantem o melhor desempenho da digestão anaeróbia.
- Comparar a digestão anaeróbia em regime mesofílico e termofílico e estudar o efeito de diversos pré-tratamentos sobre a biodegradabilidade do substrato.
- Analisar a composição dos resíduos digeridos, a fim de determinar a sua aptidão para a fertilização de solos.

## 2. Enquadramento

### 2.1 Energia

Actualmente, em todo o mundo, verifica-se a necessidade crescente de aumentar a produção de energia, provocada em parte pelo aumento populacional e, no restante, pelo desenvolvimento social e económico, e o consequente aumento do padrão de vida. Apesar de nos últimos anos se ter verificado uma maior consciência ao nível das preocupações ambientais e do consumo energético, culminando na redução da intensidade energética a nível individual e por produto, na realidade a população mundial aumenta, aumentando a procura mundial de energia.

Para atender ao incremento desta procura energética, não se pode contar apenas com os combustíveis derivados de fontes fósseis, que são limitados, e provocam diversas alterações ambientais, como por exemplo, as emissões de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que contribuem para as alterações climáticas.

Para além das consequências ambientais dos combustíveis fósseis também existem aspectos de ordem económica, políticos e de segurança a salvaguardar, como por exemplo, o preço estabelecido pelo mercado e a forte dependência de regimes políticos instáveis em diversos países produtores de combustíveis fósseis.

Portugal importa 85% da energia total consumida, enquanto que a média Europeia de importação de energia é de 50%. A questão da dependência energética é bastante negativa em vários níveis para qualquer país, tornando a economia mais frágil, visto que a energia é fundamental para o normal funcionamento dos diversos ramos da actividade: produção, serviços, indústria e a actividade agrícola. A falta de combustíveis fósseis, repentina, pode afectar e paralisar o normal funcionamento de qualquer nação, principalmente se muito desenvolvida. Todos os governos tentam garantir e assegurar os seus mantimentos, estabelecendo uma boa relação política com os países produtores de combustíveis fósseis, assinando contractos com validade de médio-longo prazo. Esta fragilidade é aumentada pela dificuldade de poder armazenar a energia ou poder assegurar reservas prolongadas dos próprios combustíveis. (Ferreira *et al.*, 2009)

Com o objectivo de tentar reduzir a dependência já referida e mitigar o impacto sobre o ambiente, a União Europeia (UE) criou uma estratégia a nível global, intitulada por: "Europa 2020", que estabelece uma meta obrigatória de 20% de quota de produção e consumo de energias renováveis, juntamente com uma meta de 10% para o uso de biocombustíveis nos transportes e na indústria, para o ano 2020. Esta estratégia é um primeiro passo fundamental para poder alcançar no futuro a independência energética que irá culminar na independência económica e política do espaço europeu.

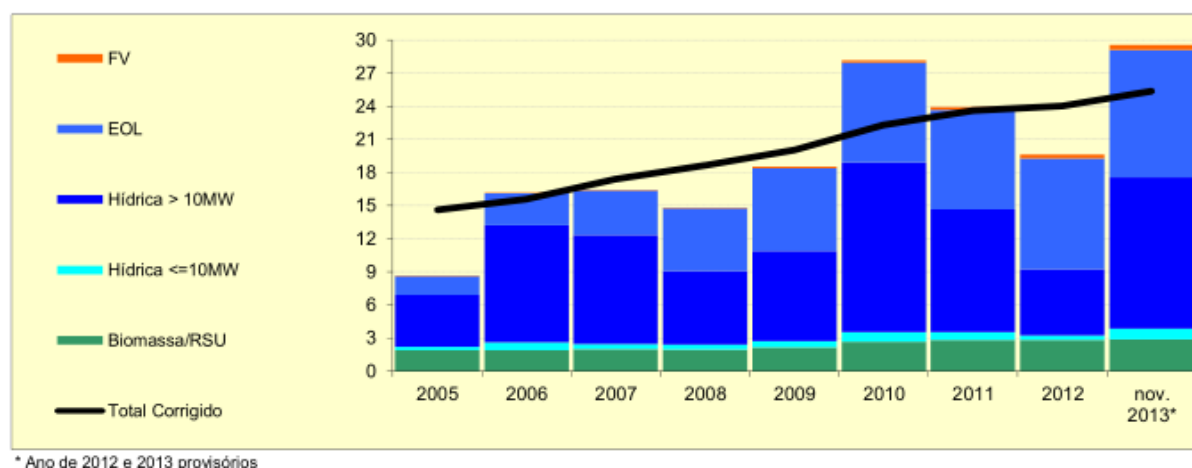


Figura - 1 Evolução da energia produzida a partir de fontes renováveis em TWh (Fonte: Estatísticas Rápidas DGEG)

A figura representa gráficamente a produção de energia em Portugal a partir de fontes renováveis, entre os anos de 2005 e 2013. Numa análise detalhada do gráfico, verifica-se que em 2005 existiam apenas três tipos de fontes renováveis utilizadas: Biomassa, Hidrica e eólica. As três fontes juntas prefaziam uma produção energética de aproximadamente 9 TWh. Nos anos seguintes o crescimento tem sido gradual, tendo-se verificado apenas em 2008 um ligeiro decréscimo. Em oposição ao ano de 2008, o ano de 2010 verificou um crescimento significativo, provocado principalmente pela fonte hidráulica. O crescimento total verificado em 2010 só volta a ser superado em 2013. Outro dos pontos relevantes deste gráfico é que nos anos após a assinatura da proposta da União Europeia, intitulada "Europa 2020", que se realizou em 2007, tem-se verificado um aumento notável na produção em energia fotovoltaica e de biomassa ( $\approx 1$  TWh em cada) em Portugal. A nível social e político verifica-se uma consciencialização da necessidade em diversificar as fontes de energia de forma a possibilitar a redução da dependência de combustíveis a partir de fontes fósseis, o que aumenta a necessidade de investigação e desenvolvimento de outras fontes de energia renováveis ou o melhoramento da eficácia das fontes existentes. Sendo actualmente fundamental e bastante pertinente: a nível político, ambiental, económico e social, a investigação e o estudo das energias renováveis, com extrema urgência devido às directivas europeias para 2020.

O biogás é um combustível bastante versátil, visto que é capaz de permitir o correcto funcionamento tanto de geradores eléctricos assim como de sistemas de aquecimento. Podendo ainda ser refinado

para biometano, permitindo que este possa ser injectado na rede de gás natural para qualquer tipo de uso, e ainda, quando comprimido pode ser usado como combustível para veículos adaptados ao uso do gás natural.

Outra das vantagens da utilização do biogás como fonte energética é o facto de o metano contribuir cerca de 20 vezes mais para o efeito estufa, quando comparado com o dióxido de carbono. Assim o metano deve ser controlado e utilizado na geração energética, para evitar a sua fuga para a atmosfera, o que proporciona um contributo significativo na contenção do efeito estufa. (O. Bréas *et al.*, 2001)

### 2.1.1 Ciclo da materia

Quando se produzem biocombustíveis através de culturas energéticas é necessário ter em conta diversos parâmetros que são fundamentais para o sucesso da cultura. Um dos parâmetros mais importantes é o solo. Os terrenos agrícolas férteis não deveriam ser utilizados, a não ser com culturas intercalares. As áreas protegidas devem ser mantidas no estado natural. Assim apenas os terrenos secundários, pousios e solos degradados podem ser usados para as culturas energéticas, além dos resíduos das culturas alimentares e as culturas intercalares). A escolha do tipo de terreno e das suas características minerais é de relevância para o sucesso da cultura. Para além deste parâmetro têm de ser utilizados ainda diversos recursos naturais finitos, como por exemplo a água, os adubos e os fertilizantes. Para vários adubos e fertilizantes são usadas matérias esgotáveis e algumas até têm origens em combustíveis fósseis. Por todos estes motivos a escolha da planta a ser cultivada é de extrema relevância para que se possa reduzir ao máximo o consumos dos diversos recursos finitos necessários.

Em qualquer tipo de cultura, seja para fins alimentares ou energéticos, há que providenciar a dose adequada de nutrientes, pesticidas e água para que possam ter rentabilidade. A utilização de adubos com azoto, fósforo e potássio, é fundamental para o sucesso de uma qualquer cultura. Os fertilizantes nitrogenados necessitam de energia para serem produzidos e os adubos fosfatados são de origem mineral não renovável, havendo estudos que prevêem o esgotamento de fosfato em 50 a 100 anos. (Cordell D. *et al.*, 2009; Dawson e Hilton, 2011)

Neste contexto o sorgo doce tem as vantagens de: requerer menos água; prosperar com sucesso em solos com poucos nutrientes, e assim impróprios para a agricultura alimentar, e requerer menores quantidades de fertilizantes e adubos. Depois da utilização dos seus açúcares para a produção de bioetanol, pode-se produzir biogás a partir dos ensilados de sorgo, para uma maior valorização desta cultura energética, utilizando o processo de digestão anaeróbia. Quando este processo acaba o produto digerido resultante é rico em nutrientes num estado químico reduzido e por isso ideal para uso como fertilizante.

## 2.2 Sorgo Doce

O Sorgo Doce [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é um tipo de sorgo específico cujo caule é rico em açúcar. Para além de ser uma cultura muito adaptável, o sorgo doce tem um crescimento rápido, uma acumulação alta de açúcar e um potencial de produção de biomassa elevado. É uma planta C4 notória devido às suas reduzidas necessidades e exigências para uma cultura de sucesso, seja de água, produtos químicos ou de energia e pelo seu sistema radicular bem desenvolvido, que permanece no solo após a colheita, preservando humus e nutrientes. (Reddy e Sanjana, 2003; Matsakas e Christakopoulos, 2013; Jerger *et al.*, 1987; G. Grassi, 2006; Köppen *et al.*, 2009)

Os testes de campo na região da Beira Interior decorreram durante quatro anos, em que, com consumos muito reduzidos, os níveis de produção chegaram aos 90 ton/ha. Deste modo estes resultados apontam para que o sorgo doce tem capacidades adequadas para as condições edafo-climáticas da região de Castelo Branco. (Sancho-Redondo, 2007)

### 2.2.1 Sorgo Doce vs. Cana-de-Açúcar

O melhor substrato para a produção de bioetanol é a cana-de-açúcar que, por sua vez, é uma das principais culturas utilizadas a nível mundial. Esta tem uma capacidade de produção de etanol de 6500 l/(ha.ano), enquanto o sorgo doce tem 2800 l/(ha.ano), em duas colheitas. Mas a cultura da cana-de-açúcar não se adapta ao clima das regiões nacionais. Em contrapartida, como foi referido anteriormente, o sorgo doce é de fácil cultivo em território nacional. O teor total de açúcares redutores e de açúcares pobres no sorgo doce é mais elevado em relação à cana-de-açúcar e impede a cristalização, por outro lado os açúcares produzidos a partir do sorgo doce apresentam excelentes condições para a fermentação alcoólica revelando taxas de conversão elevadas, indo até a 90% de eficiência de conversão. (Huligol *et al.*, 2004; Ratnavathi *et al.*, 2004)

O crescimento da cana-de-açúcar tem o inconveniente de ser sazonal enquanto o sorgo doce pode ser colhido duas a três vezes por ano, garantindo que uma destilaria funcione durante todo o ano. Desta forma o sorgo doce pode ser considerado como uma alternativa atractiva e mais viável à cana-de-açúcar, podendo resultar em custos de destilação anuais mais baixos. Tendo ainda a vantagem de menores necessidades de água e de fertilizantes do que a cana, podem resultar em custos de produção anuais mais baixos. (Soltani e Almodares, 1994; Dayakar Rao *et al.*, 2004)

O sorgo doce é um excelente substrato para a produção de etanol e tem sido especialmente considerado em climas em que o cultivo da cana-de-açúcar é menos favorável, como é o caso do clima de Portugal Continental. (Reddy *et al.*, 2005; Sancho-Redondo, 2007)

## 2.3 Bioetanol

O bioetanol é o biocombustível mais produzido do mundo. O seu uso já se encontra bem estabelecido tanto como combustível como para fins não combustíveis (bebidas, produção de produtos farmacêuticos e cosméticos). Como combustível pode ser usado misturado com gasolina, no entanto para misturas acima de 10% de etanol é necessário fazer alterações em componentes do motor.

Pode ser produzido por fermentação directa de matéria orgânica que contém açúcar (ex: cana-de-açúcar, beterraba sacarina, frutas, melão, etc.) ou por fermentação de açúcar convertido de amido (ex: milho, batata, etc.) ou de celulose (madeira, ervas, etc.), sendo necessário um pré-tratamento de hidrólise para a conversão dos açúcares. A fermentação é feita por leveduras que consomem glucose e frutose para produzir energia; os resíduos deste processo são dióxido de carbono, etanol e um resíduo rico em leveduras. (Gupta e Demirbas, 2010; Freudenberger, 2009)

O aproveitamento do sorgo doce implica a espremedura da biomassa para a extração de um líquido rico em açúcares que será fermentado para a produção de etanol. O resíduo da espremedura é o ensilado de sorgo doce que pode ser valorizado para a digestão anaeróbia. A valorização dos seus resíduos com a digestão anaeróbia incrementa a eficiência total da conversão da biomassa em produtos energéticos. Conjugando assim diferentes procedimentos para otimizar e maximizar a utilização da matéria orgânica com a consequente produção de combustível.

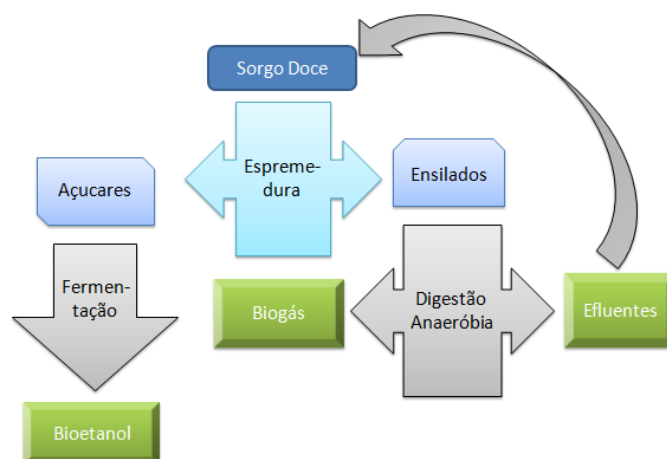


Figura - 2 Esquema do possível processo de valorização do sorgo doce.

## 2.4 Digestão Anaeróbia e Biogás

No caso da produção de energia por alternativas renováveis com fonte na biomassa, a digestão anaeróbia é uma tecnologia bem estabelecida e reconhecida pela sua versatilidade, sendo útil no tratamento de resíduos orgânicos concentrados, na depuração directa de efluentes industriais, no tratamento da fracção orgânica de lixos e também no tratamento de resíduos de culturas agrícolas. Este processo tem grande relevo pois pode ser inserido num sistema de valorização agrícola dos resíduos, fornecendo a possibilidade de fechar o ciclo da matéria e valorizar resíduos que à partida seriam perdidos ao longo da cadeia energética.

O processo da degradação é efectuado por alguns conjuntos de microrganismos e agentes biológicos (bactérias e enzimas) que, trabalhando em sintropia e em sinergia, atacam as grandes macro-moléculas dos compostos orgânicos produzidos pela cadeia trófica da natureza (proteínas, hidratos de carbono, gorduras) e as decompõem em compostos mais simples, que servem de alimento para as espécies subsequentes.

O processo conduz à transformação de grandes moléculas em produtos de pequena dimensão, solúveis na água e reduzidos até que possam passar através da membrana celular e serem utilizados pelos microrganismos. Por esta razão, o processo de degradação desenvolve-se segundo uma sequência de reacções, principalmente de oxidação-redução, utilizando caminhos complexos e ainda não completamente conhecidos.

Simplificando, o processo de degradação é constituído por três etapas principais em que intervêm diversos microrganismos que reduzem as macro moléculas orgânicas em compostos mais simples:

- **hidrólise:** nesta fase ocorre a degradação de partículas e resíduos coloidais como proteínas, gorduras e hidratos de carbono. Estas substâncias poliméricas são transformadas em moléculas solúveis;
- **fase acidogénica e acetogénica:** os compostos solúveis produzidos durante a hidrólise são degradados por uma grande diversidade de bactérias facultativas. Da degradação destes compostos resulta a produção de dióxido de carbono, hidrogénio, alcoóis, ácidos orgânicos, alguns compostos orgânicos de enxofre e outros de azoto. O composto mais importante é o ácido acético que serve de substrato para as bactérias metanogénicas;
- **fase metanogénica:** o metano, nesta fase, é formado principalmente a partir de acetato, dióxido de carbono e hidrogénio. Quaisquer compostos que não sejam degradados pelas bactérias metanogénicas ficam em suspensão no inóculo.

A cinética de todo o processo depende de um equilíbrio entre a velocidade de produção de acetato e a velocidade de consumo desse acetato pelas bactérias metanogénicas.

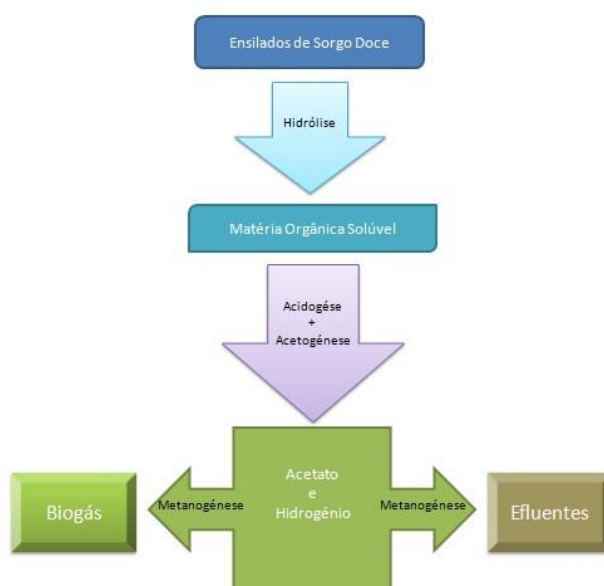


Figura - 3 Esquema Simplificado da digestão anaeróbia

A digestão é realizada num recipiente isolado do ar e aquecido, encontrando condições de funcionamento óptimas a 35 °C na gama mesofílica e 55 °C na gama termofílica. O aumento da temperatura aumenta a velocidade de degradação e o grau de conversão da matéria tornando-se o processo mais sensível a variações de temperatura.

Em cada gama de temperaturas em que o processo de fermentação metanogénica pode efectuar-se participam estirpes bacterianas com características específicas e adaptadas ao valor térmico do meio.

Tendo isto em conta, na Tabela 1 são listadas as estirpes de bactérias metanogénicas consoante a gama de temperaturas necessárias para um crescimento óptimo.



Tabela - 1 Estirpes de bactérias metanogénicas e a sua gama de temperaturas para crescimento óptimo (Gerardi M., 2003)

Genus	Gama de Temperatura (°C)
Methanobacterium	37–45
Methanobrevibacter	37–40
Methanosphaera	35–40
Methanothermus	83–88
Methanococcus	35–40
“	65–91
Methanocorpusculum	30–40
Methanoculleus	35–40
Methanogenium	20–40
Methanoplanus	30–40
Methanospirillum	35–40
Methanococcoides	30–35
Methanohalobium	50–55
Methanohalophilus	35–45
Methanobolus	35–40
Methanosarcina	30–40
“	50–55
Methanotherix	35–50

A velocidade de crescimento das bactérias que vivem na gama de temperatura mais alta, tendo à disposição maior energia, é superior em relação às que vivem nas gamas mais baixas. Como se pode ver na tabela 2, quanto maior a gama de temperaturas utilizada menor a taxa de duplicação (tempo que uma bactéria leva reproduzir-se) das bactérias:

Tabela - 2 Características das Estirpes bacterianas em função da Temperatura

Gama de temperaturas	Tipo de bactérias	Valor óptimo	Taxa de duplicação
4°C - 25°C	Psicrofílicas	18 °C	10 - 40 dias
10 °C - 40 °C	Mesofílicas	37 °C	2 - 10 dias
45 °C - 70 °C	Termofílicas	55 °C	1 - 2 dias

A gama psicrofílica é, normalmente, utilizada em sistemas simplificados tais como fossas sépticas, pequenos digestores e lagoas sendo baixo o rendimento destes processos na produção de biogás e a velocidade de biodegradação lenta. A produção de biogás é mais comum em regime mesofílico porque, apesar de ser mais rápida em regime termofílico, as condições são mais fáceis de controlar.

A digestão anaeróbia, ao retirar da fase líquida entre 30% a 80% dos sólidos orgânicos biodegradáveis, proporciona um tratamento eficaz dos resíduos. Do ponto de vista bioquímico, o material digerido resultante é bastante estável e pouco putrescível, é rico em compostos nutrientes reduzidos e contém uma menor carga de patogénicos. Devido a estas características, este material possui boas condições para ser usado na agricultura, uma vez que se pode aproveitar o teor de nutrientes da fracção líquida em terras de aragem, e a fracção sólida pode ser aproveitada como condicionador de solos ou ser enviada para compostagem.

Estas características fazem com que a digestão anaeróbia tenha uma posição chave na implementação de um sistema de tratamento e valorização sustentável, diminuindo a necessidade de fontes de energia convencionais e também a utilização de fertilizantes sintéticos.

### 2.4.1 Tipos de Reactores

A escolha do tipo de reator para o processo de digestão anaeróbia é muito importante, uma vez que tem de ser adequado para o tipo de substrato utilizado. Assim, as propriedades físicas e químicas do substrato devem ser conhecidas de modo a assegurar o melhor rendimento possível, consoante o tipo

de reactor. Existem duas diferentes formas em que um reactor pode operar: em descontínuo (batch) ou contínuo.

Nos reactores descontínuos toda a matéria orgânica é selada num depósito até que se degrade completamente, assegurando assim que a curva de produção do biogás segue aproximadamente a curva de crescimento dos microorganismos. Estes reactores são geralmente simples e económicos, tendo maior eficiência quando usados com substrato de alto teor de matéria orgânica e de produção sazonal. Os principais modelos destes reactores distinguem-se entre o reactor em descontínuo com depósito único, o reactor híbrido, que combina um reactor de leito de lamas de fluxo ascendente com um filtro anaeróbio e o reactor em descontínuo de duas fases, no qual a metanogénese ocorre apenas no segundo reactor. (Gerardi M., 2003)

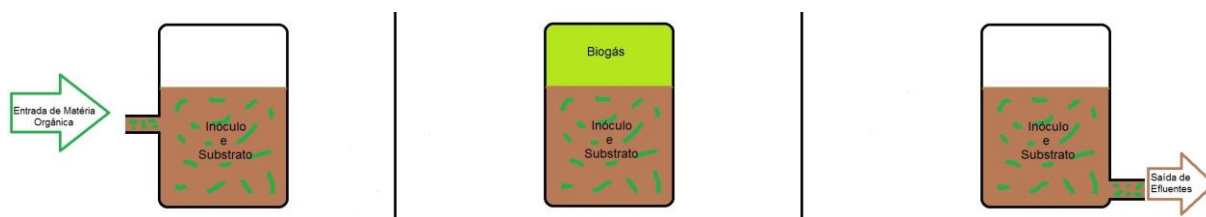


Figura - 4 Esquema de um reactor de funcionamento em descontínuo (batch)

Nos reactores contínuos, o volume mantém-se constante. A saída da matéria degradada e a entrada de nova matéria orgânica no reactor ocorrem em simultâneo, permitindo uma produção contínua de biogás.

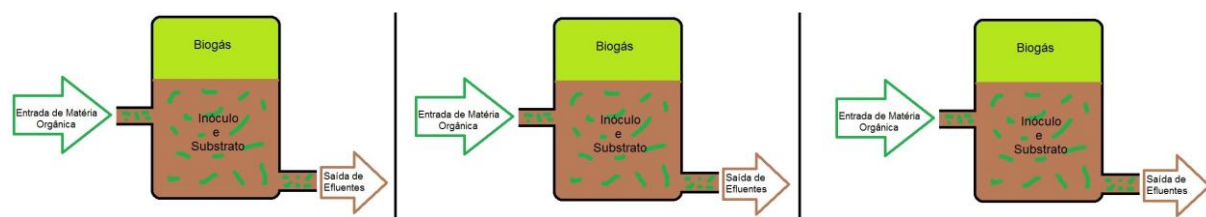


Figura - 5 Esquema de um reactor de funcionamento em contínuo

Reactores contínuos são muito versáteis ao tipo de substrato consoante as características do que se pretende degradar e, como tal, existem vários modelos, como por exemplo (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009; van Buren, A., 1979):

- Reactor de mistura completa (CSTR – Continuous Stirred Tank Reactor): é o mais utilizado. É caracterizado pela agitação do conteúdo em digestão que, quer por meios mecânicos ou por recirculação de biogás, assegura um valor constante de temperatura e das concentrações de alimentação e microorganismos no interior do reactor.
- Reactor de contacto: é um sistema que combina um CSTR com um sistema de separação e recirculação de bactérias. A sua principal vantagem é aumentar tempo de retenção dos microorganismos e, portanto, necessitar de volumes de operação mais baixos para a mesma quantidade de matéria orgânica. Não é aplicável a qualquer substrato, pois requer uma boa sedimentabilidade das lamas. As suas vantagens compensam os maiores custos devido à utilização de um decantador e bombas de recirculação.
- Reactor de leito de lamas de fluxo ascendente (UASB – Upflow Anaerobic Sludge Blanket): é frequentemente usado para altas concentrações de matéria orgânica e baixo teor de matéria em suspensão. O rendimento do processo é aumentado pela retenção da biomassa no reactor. Isto permite a formação de grânulos densos de microorganismos anaeróbios que apresentam uma grande área de contacto com o substrato.

- Reactor de fluxo pistão: como o próprio nome indica, é caracterizado pela movimentação do conteúdo do digestor, em que camadas com diferentes características entram e saem do reactor em simultâneo sem que estas se misturem. Assim, uma determinada quantidade de residuo não tratado irá entrar no reactor, sem se misturar com a camada de resíduo tratado já existente no seu interior, provocando a saída de uma quantidade de resíduo tratado equivalente à que entrou previamente, gerando assim um fluxo contínuo de renovação de resíduos. Este reactor permite ainda a acumulação do biogás formado neste processo na cobertura do mesmo.

O tipo de reactor mais adequado para a digestão anaeróbia de sorgo doce é o CSTR. Este tipo de reactor é versátil e adapta-se bem a substratos sólidos como o sorgo doce, é também relativamente simples e barato, tendo tido resultados muito positivos em testes laboratoriais. (Jerger D.E. *et al.*, 1987)



Figura - 6 Esquema de um reactor industrial do tipo CSTR (em cima, fonte: [www.mannvit.com](http://www.mannvit.com)); fotografia de uma central de digestão anaeróbia que emprega reactores CSTR (em baixo, fonte: [www.wateronline.com](http://www.wateronline.com))

#### **2.4.2 O pH na digestão anaeróbia**

O pH é um parâmetro importante na digestão anaeróbia, este deve ser controlado uma vez que influencia o desenvolvimento de micro-organismos. O metabolismo das bactérias metanogénicas é muito sensível ao pH e a produção de uma grande quantidade de ácidos gordos voláteis (AGV) na fase acidogénica, pode causar um decréscimo nos valores de pH, o que pode levar à inibição e decaimento das bactérias metanogénicas. Os valores de pH óptimos dependem dos microorganismos envolvidos; para a metanogénese o valor de pH óptimo é 7; as etapas de hidrólise e acidogénese têm valores óptimos entre 5,5 e 6,5.

Assim, existem digestores que realizam separadamente as etapas da digestão de modo a otimizar as condições do desenvolvimento de cada etapa, obtendo melhores resultados em termos de biogás produzido e estabilidade do reactor. Quando não existe uma separação física das diferentes fases, a concentração de AGV deve ser inferior a 2000 mg/l para evitar a inibição das bactérias metanogénicas. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009)

#### **2.4.3 O potencial redox nas reacções de digestão anaeróbia**

O potencial redox (pRedox) de um digestor é uma medida do nível de oxidação do seu conteúdo. A produção de biogás é obtida eficientemente em ambiente anaeróbio reduzido com um pRedox de -300 (+/- 30) mV. Os substratos que contêm grupos de oxigénio (sulfato ou nitrato) podem alterar significativamente o pRedox. Efectuando medições contínuas do pRedox, consegue-se informação relevante e conclusiva sobre o estado do sistema que antecipa variações do pH e aumento de AGV. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009)

#### **2.4.4 Carga Orgânica**

A carga orgânica é determinada pela quantidade de sólidos voláteis (SV), ou pela carência química de oxigénio (CQO), que o digestor recebe. A utilização de níveis elevados de matéria orgânica permite realizar um digestor mais compacto com vantagens económicas. Muitos digestores anaeróbios funcionam com valores de carga orgânica inferiores ao seu potencial máximo de forma a prevenir sobrecargas que podem levar à sua falha. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009; Ward *et al.*, 2008)

#### **2.4.1 Tempo de Retenção Hidráulica e das Bactérias**

O tempo de retenção hidráulica (TRH) é um parâmetro de grande importância. O TRH determina a permanência do substrato no reactor estando relacionado com o periodo necessário para hidrolisar o material orgânico e produzir biogás. O Tempo de Retenção das Bactérias (TRB) exprime o tempo que as bactérias permanecem no digestor. O TRH e o TRB coincidem nos reactores de mistura completa, mas são bem diferentes nos reactores de contacto, UASB, com fluxo em pistão etc. Com determinados substratos, tais como substratos com grande percentagem de lenhina, a hidrólise é a parte mais complexa do processo sendo necessário que exista TRH suficiente para hidrolisar o material orgânico. Este parametro exprime o tempo em que o meio a digerir é mantido no processo digestivo e é calculado como a razão do volume do digestor e o caudal do efluente. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009)

## 2.4.2 A importância do Rácio Carbono/Azoto (C/N)

Um outro factor que tem influência sobre a digestão anaeróbia é a proporção entre carbono e azoto presentes no meio que deve ser controlada de forma a que o digestor funcione adequadamente. Os valores óptimos da relação C/N para um digestor anaeróbio são entre 20:1 e 30:1. Quando a matéria prima não tem os valores aconselhados, a co-digestão com outros substratos é uma boa estratégia para equilibrar a relação C/N. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009; Verma S., 2002)

### 2.4.1 O papel do Azoto

O azoto amoniacal encontra-se em fase líquida e em equilíbrio entre a sua forma molecular e a sua forma iónica. A concentração de azoto amoniacal é definida como a quantidade de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) e de ião amónia ( $\text{NH}_4^+$ ) presentes no meio. O azoto amoniacal presente no líquido do digestor resulta da degradação biológica da fracção do substrato que tem azoto na sua constituição, como proteínas e ureia. Elevados níveis de azoto amoniacal são tóxicos para as bactérias metanogénicas e podem provocar a inibição do reactor. Quando a digestão anaeróbia é inibida devido à presença de amónia em concentrações elevadas, diminui a produção de metano e acumula AGV. Como a amónia tem um pH alto e os AGV um pH baixo, a inibição provocada por excesso de azoto amoniacal não revela diminuição de pH, ao contrario de outras situações de inibição. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009)

### 2.4.2 Fósforo

O fósforo é um macronutriente importante para qualquer processo de tratamento biológico. No minimo deve existir uma proporção Carbono/fósforo de 150:1 para não ocorrer inibição da digestão anaeróbia. O processo não é afectado negativamente quando existem concentrações elevadas de fósforo. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009; DGE, 2000)

### 2.4.3 Presença de Metais

A existência de alguns tipos de iões metálicos (por exemplo: Fe, Co ou Ni) no substrato utilizado no processo anaeróbio provou ter efeitos positivos sobre a produção de biogás. A sua presença no meio é de importância vital para o crescimento e desenvolvimento de microorganismos metanogénicos. No entanto a sua concentração tem de ser controlada, uma vez que o seu excesso pode ser tóxico e causar inibição do processo anaeróbio. (Gerardi M., 2003; Ogejo *et al.*, 2009)

## 2.5 Pré-Tratamentos

Para usar biomassa como matéria-prima para a produção de biogás é necessário proceder à sua caracterização e verificar a sua composição em termos de diversos parâmetros: sólidos totais, sólidos voláteis, cinzas, lípidos, proteínas e pH. No caso de substratos de origem vegetal a análise envolve também o seu conteúdo de hemicelulose, celulose e lenhina. No caso presente do estudo uma parte importante da matéria orgânica do ensilado do sorgo doce é composta por materiais de origem lenho-celulósica ou celulósica, que afectam a biodegradabilidade.

As cadeias de celulose são envoltas por ligações de hidrogénio (chamadas de microfibrilas elementares). Estas fibras estão ligadas umas às outras por hemiceluloses, polímeros amorfos de diferentes açúcares bem como outros polímeros, tais como a pectina e encontram-se cobertas por lenhina. As microfibrilas são geralmente dispostas na forma de feixes ou microfibrilas. Esta complicada estrutura torna a celulose resistente a tratamentos biológicos.

A lenhina é o componente mais recalcitrante de parede da célula da planta e, quanto maior for a sua proporção, maior é a resistência à degradação. Esta composição torna a biomassa menos

biodegradável e, por conseguinte, o processo de digestão anaeróbia é menos produtivo. Para melhorar a produção de biogás e promover e acelerar a etapa de hidrólise, antes de inserir a biomassa no digestor, pode-se aplicar um ou mais pré-tratamentos que visam aumentar a degradação das macromoléculas, quebrando as ligações fortes. O pré-tratamento inicial usado para aumentar a hidrólise consiste na redução do tamanho da biomassa em partículas mais pequenas com processos mecânicos de corte e trituração. Segue-se depois um ataque químico com ácidos ou enzimas para libertar e tornar disponível os açúcares. Estes pré-tratamentos garantem uma hidrólise mais eficiente e maior rendimento de conversão, o que é benéfico quer na produção do biogás quer do etanol ou para outras fermentações que produzem outros biocombustíveis ( $H^2$ ), sendo uma necessidade comum para todos os processos de conversão biológica da biomassa, . (Silva *et al.*, 2010; Yamashita *et al.*, 2010)

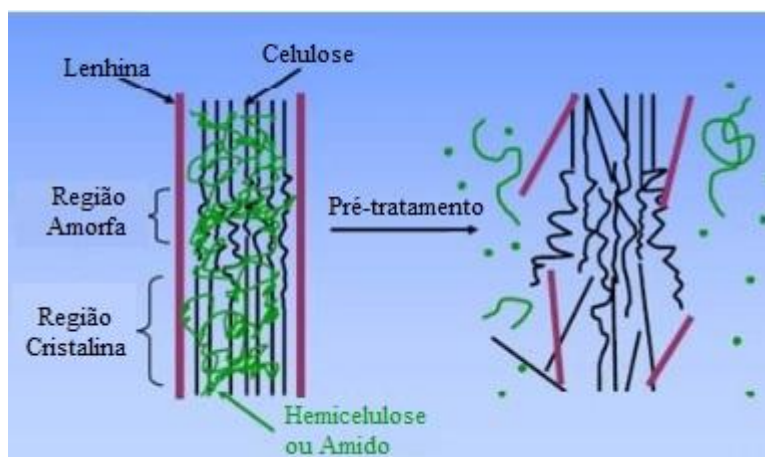


Figura - 7 Esquema do efeito de pré-tratamentos em biomassa lenhocelulósica (Adaptado de Mosier *et al.*, 2004)

Os métodos mais utilizados antes da digestão para pré-tratamento de materiais lenhocelulósicos são (Silva *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2011; Mishima *et al.*, 2006; Mais U. *et al.*, 2002; Gerhardt *et al.*, 2007):

- **pré-tratamento físico** – os pré-tratamentos físicos ou mecânicos, já referidos, reduzem o tamanho das estruturas da biomassa e consequentemente aumentam a área de superfície acessível às bactérias e o tamanho dos poros. Diminuem também a cristalinidade e graus de polimerização da celulose. Com esta operação desfazem-se as paredes de lenhina e fornecem-se mais vias de acesso e oportunidades de contacto à celulose e hemicelulose existentes no interior da estrutura. Melhoram-se também as condições de transferência de massa e calor durante a hidrólise.

Os processos físicos utilizados para melhorar a biodegradabilidade dos materiais lenhocelulósicos são o corte, a moagem e a irradiação. O corte pode ser efectuado de uma forma simples reduzindo o tamanho das fibras em pedaços com cerca de 1 cm de comprimento ou menos. Este método melhora a susceptibilidade à hidrólise enzimática, o que resulta num aumento da produção de biogás.

Para o processo de moagem utiliza-se uma máquina de trituração que pulveriza as fibras em em pequenas partículas ( $\pm 60-700 \mu m$ ), proporcionando condições que permitem mais eficiência de conversão do que o método de corte.

Outro método proposto para a degradação dos materiais lenhocelulósicos é efectuado por meio de irradiação (por exemplo com microondas) dando origem a fibras frágeis e de baixo peso molecular, oligossacarídeos e mesmo celobiose;

- **Pré-tratamento químico** – Os pré-tratamentos químicos têm como objectivo principal melhorar a biodegradabilidade da celulose por meio da decomposição da estrutura da lenhina

e/ou da hemicelulose, exercendo também a acção secundária de reduzir a polimerização e a cristalinidade da celulose.

Um pré-tratamento alcalino consiste na mistura da biomassa a uma dada temperatura e tempo de contacto com soluções, tais como hidróxido de sódio (NaOH), hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) ou amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). Considera-se que o mecanismo de acção é a saponificação de ligações intermoleculares de ésteres que unem a hemicelulose xilana com outros componentes tais como a lenhina e outras hemiceluloses. Uma consequência deste mecanismo é um afloramento da biomassa que, subsequentemente, leva a uma diminuição do grau de polimerização e cristalinidade, ruptura da estrutura de lenhina e a separação das ligações estruturais entre a lenhina e hidratos de carbono. O azoto amoniacal possui um grande potencial na utilização prática tendo ganho popularidade, uma vez que o reagente pode ser recuperado e reciclado, devido à sua elevada volatilidade, reduzindo o custo do pré-tratamento e de pós-tratamento dos resíduos. O azoto amoniacal que fica na solução é aproveitado na fertilização agrícola, caso o efluente seja destinado a esse fim.

Em comparação com outras tecnologias de pré-tratamento, o ataque alcalino normalmente usa temperaturas e pressões mais baixas, sendo por vezes utilizadas condições atmosféricas. O tempo de reacção deste pré-tratamento é da ordem de diversas horas ou dias, bastante superior a outros processos de pré-tratamento alternativos;

- **Pré-tratamento térmico** – Neste tipo de pré-tratamento a quebra das ligações lenhocelulósicas presentes na matéria orgânica é efectuada aquecendo o substrato a uma temperatura acima de 60 °C durante um determinado período de tempo, que varia entre alguns minutos a várias horas, numa atmosfera húmida.

Um exemplo é o ataque térmico com água quente ou vapor a alta pressão, realizado numa autoclave especializada. A biomassa é levada a uma temperatura acima dos 100 °C, para provocar a desintegração da parede celular e libertar os materiais intracelulares, degradando a lenhina com eficácia, sem atacar os açúcares. Esta técnica pode provocar a acidificação do meio (redução do pH) e apresentar o risco de poder produzir compostos inibitórios à digestão anaeróbia. O tratamento térmico é uma opção energeticamente sustentável e por vezes economicamente viável pois neste processo de pré-aquecimento é utilizado o biogás da própria digestão anaeróbia;

- **Pré-tratamento biológico** – O pré-tratamento biológico é efectuada por enzimas que atacam as moléculas lenhocelulósicas e promovem a sua hidrólise. No mercado existem numerosos enzimas comerciais produzidos especificamente para esse efeito a partir de fungos lenhocelulósicos que revelam elevada eficiência com determinados substratos. A acção dos fungos normalmente dirige-se à degradação da lenhina, hemicelulose e, em menor porção, à celulose, uma vez que a última é mais resistente ao ataque enzimático. Os fungos de degradação branca estão entre os microrganismos mais eficientes para o pré-tratamento biológico das lenhoceluloses. Este pré-tratamento biológico é uma técnica promissora com vantagens potenciais muito evidentes: baixo consumo energético, funcionamento eficaz em condições ambientais amenas. É uma solução ambientalmente amigável visto que normalmente dispensa do uso de produtos químicos. No entanto tem desvantagens: é um processo muito lento, exige um cuidadoso controlo das condições de crescimento, ocupando um volume de reacção elevado para o tratamento. A maioria dos microrganismos lenhocelulósicos solubiliza ou consome não só lenhina mas também celulose e hemicelulose.

Actualmente estão disponíveis vários preparados enzimáticos bastante eficazes e com tempo de reacção reduzidos que têm vindo a provar a sua eficácia na aplicação experimental.



### 3. Metodologia

#### 3.1 Sistema experimental

Os ensaios foram efectuados em regime de alimentação descontínuo (batch), utilizando reactores laboratoriais, em que foram colocados, numa única fase, 700 ml de inóculo e 12g de Sorgo Doce.

Na figura 8 consta o sistema laboratorial adoptado utilizado correntemente no LNEG, que é composto com os seguintes elementos:

- Frascos de 1000 ml, onde se realiza a actividade biológica (reactores).
- Banho termostatzado, para manter uma temperatura constante nos reactores.
- Torneira para retirar as amostras do biogás.
- Tubos eudiométricos ligados a sistema hidráulico para medir a produção de biogás.



Figura - 8 Sistema utilizado nos testes de biodegradabilidade

No decurso dos ensaios, o biogás produzido no interior dos reactores gera uma pressão que desloca para um reservatório, ao qual que se encontram interligados, o líquido existente nos tubos eudiómetros graduados. O líquido é constituído por uma solução aquosa hipersalina composta de H<sub>2</sub>O (79%), NaCl (20%) e HCl (1%), para minimizar a dissolução dos gases.

Efectuando periodicamente a leitura e contabilização do volume do líquido deslocado pelo volume de biogás produzido dentro dos tubos graduados de recolha, em condições isobáricas, ajustando a cota do reservatório ao mesmo nível do líquido nos tubos eudiométricos graduados, obtém-se o volume de biogás produzido.

Após o enchimento dos reactores com as quantidades de inóculo e resíduos adequadas para o processo experimental (com base em Field *et al.*, 1988), deixa-se borbulhar uma corrente de azoto para eliminar



o oxigénio presente e criar uma atmosfera inerte no seu interior, criando assim condições anaeróbias. De seguida, os frascos são fechados e colocados nos banhos, iniciando os testes de biodegradabilidade em descontinuo.

### 3.2 Ensaios efectuados

Com o objectivo de se obter informações alargadas sobre a degradabilidade do sorgo doce a partir da digestão anaeróbia, foram efectuados diversos ensaios que permitem avaliar a influência da temperatura sobre a digestão e, também, o efeito de pré-tratamentos específicos sobre a degradação da lenhina e a biodegradabilidade global do sorgo doce. Todas as amostras foram sujeitas a um pré-tratamento mecânico que consistiu em cortar o substrato em bocados de cerca de 1cm, utilizando tesouras.

Desta forma as amostras do substrato em estudo foram sujeitas aos seguintes pré-tratamentos:

- Sorgo Doce sem qualquer pré-tratamento (Controlo)
- Sorgo Doce submetido a pré-tratamento de baixa temperatura (PT-BT), 20 minutos numa estufa a 80 °C.
- Sorgo Doce submetido a pré-tratamento de alta temperatura (PT-AT), 20 minutos numa autoclave a 120 °C.
- Sorgo Doce sem qualquer pré-tratamento mas com adicionamento de enzimas no momento do fecho dos reactores. (Controlo Enzimas)
- Sorgo Doce com pré-tratamento enzimático (PT-Enzimas), enzimas Celluclast 1.5L e Novozyme 188, 48 horas a pH 5,5. De acordo com o método descrito em anexo.

Sucessivamente foram preparados os seguintes diferentes lotes de substrato:

Nome da Amostra	Pré-Tratamento	Condições da Digestão
Var. 23402	Mecânico	Mesofílico
Var. SUGAR T	Mecânico	Mesofílico
Var. SUGARGRAZE	Mecânico	Mesofílico
Controlo	Mecânico	Termofílico
PT-BT	Mecânico e Térmico	Termofílico
PT-AT	Mecânico e Térmico	Termofílico
Controlo Enzimas	Mecânico	Termofílico
PT-Enzimas	Mecânico e Enzimático	Termofílico

### 3.3 Metodologia do ensaio

Os reactores foram mantidos a uma temperatura de 35°C, no decorrer dos ensaios em condições mesofílicas, regulando o banho termostaticado. Para os ensaios em condições termofílicas o banho termostaticado foi regulado para 50°C.

Para este estudo, todos os ensaios foram efectuados em duplicado o que requereu a montagem de 18 sistemas em paralelo para ambos os ensaios.

Para o ensaio mesofílico cada reactor foi cheio com o respectivo inóculo até aos 700 ml, sem diluição, pois as lamas já se encontravam com o teor de água desejado. A concentração dos sólidos voláteis (SV) por parte das lamas era cerca de 4 g/l, cumprindo os valores adequados para a realização da digestão anaeróbia. Devido a uma inesperada falta de lamas foi necessário diluir o inóculo de todos os

reactores da terceira bancada em cerca de metade, fazendo com que a contribuição de SV fosse de cerca de 2 g/l, o que pode dar origem a um arranque mais lento nestes reactores em relação aos outros.

No ensaio termofílico foi adicionado um volume de inóculo de 105 ml e depois ajustou-se o volume até 700ml com água, fazendo com que a concentração média de SSV na solução preparada fosse de 3,5 g/l. Esta diluição permitiu reduzir em cerca de 6,7 vezes a alta concentração de azoto amoniacal presente nesse inóculo, potencialmente inibidor da metanogénese.

Em cada reactor foram adicionados 12 gramas de substrato a fim de manter uma relação substrato/inóculo adequada para assegurar a evolução regular da metanogénese e impedir a acidificação do meio. Assim, o desempenho é regulado pela disponibilidade do substrato, sem ser afectado pelas condições de carga inicial utilizadas nos ensaios.

Durante os testes mesofílicos foram utilizadas as três variedades do substrato para se observar e comparar a existência de diferenças na produção potencial de energia.

No ensaio termofílico foi utilizada apenas a Var. 23402 do sorgo doce, a única disponível em quantidades suficientes para efectuar um conjunto de ensaios completos.

## **4. Resultados**

### **4.1 Características e composição do substrato**

Como já referido, os resíduos a utilizar para a produção de biogás através da digestão anaeróbia, foram fornecidos pelo IPCB, que procedeu também à avaliação do seu potencial agrícola em termos de taxa de crescimento, utilização de solo e necessidades de água e nutrientes.

As amostras dos substratos agrícolas foram plantadas em diversos terrenos de forma a avaliar o efeito da exposição, do solo e de outros parâmetros de carácter agrícola sobre o crescimento e a composição das três variedades da planta. Após a sua apanha o IPCB procedeu a retirar o sumo, para ser submetido a ensaios de produção de etanol. Os resíduos da espremedura do sorgo foram sucessivamente armazenados em condições de ensilagem até serem enviados para os ensaios de biodegradação.

Desta forma as amostras do substrato em estudo correspondiam às seguintes variedades:

- Var. 23402
- Var. SUGAR T
- Var. SUGARGRAZE

Antes de efectuar os ensaios de biodegradabilidade, os resíduos agrícolas foram fraccionados no laboratório do LNEG até dimensões de aproximadamente 1 cm, tamanho este correspondente ao que as máquinas de corte para silagem produzem quando manipulam este tipo de biomassa.

Na tabela 3 constam os valores médios das determinações analíticas efectuadas ao substrato.

Tabela - 3 Composição físico-química dos substratos

Parâmetro	Var. 23402	Var. SUGAR T	Var. SUGARGRAZE
Matéria Seca ST (g/kg)	319,48	335,31	331,88
Matéria Orgânica SV (g/kg)	308,51	324,60	317,33
N-Total (g/kg)	13,10	7,27	7,73
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Total (g/kg)	0,38	0,37	0,42
P-Total (g/kg)	1,30	0,47	0,67
Proteína Bruta (g/kg)	15,69	16,74	13,93
Fibra em Detergente Neutro (g/kg)	171,60	247,20	208,09
Fibra em Detergente Ácido (g/kg)	103,96	149,71	129,72
Lenhina em Detergente Ácido (g/kg)	11,32	19,19	18,67

As determinações foram efectuadas em duplicado e apresentaram boa concordância, com desvios relativamente reduzidos entre as medidas obtidas. O material apresentava uma estrutura sólida sem líquidos solúveis.

A partir dos valores das composições obtidas é possível deduzir-se o seguinte:

- **ST e SV:** O substrato tem uma elevada concentração de matéria sólida (ST > 32%) e orgânica (SV) podendo ser utilizado no processo da digestão anaeróbia em fase sólida ou húmida.
- **N-Total/P-Total/Proteína Bruta:** Estes parâmetros exprimem que uma importante fracção do substrato é constituída por proteínas. A concentração de azoto disponível é adequada para a degradação anaeróbia.
- **N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Total:** A concentração de azoto amoniacal não é significativa, sendo que a maior parte do azoto encontra-se sobre a forma de proteínas vegetais por degradar.
- **FDN(Fibra em Detergente Neutro)/FDA(Fibra em Detergente Ácido)/LDA(Lenhina em Detergente Ácido):** Estes parâmetros são utilizados para determinar a percentagem de celulose, hemicelulose e lenhina, do substrato. Estes valores constam na Tabela 4.

Tabela - 4 Composição lenho-celulósica dos substratos

Parâmetros	Var. 23402	Var. SUGAR T	Var. SUGARGRAZE
Hemicelulose (g/kg)	67,64	97,49	78,36
Celulose (g/kg)	92,64	130,52	111,06
Lenhina (g/kg)	11,32	19,19	18,67

O substrato tem uma quantidade considerável de celulose e hemicelulose e, comparativamente, uma quantidade diminuta de lenhina, sendo esta uma composição muito favorável e adequada para poder ser degradado com eficácia num sistema de digestão anaeróbia e, consequentemente, produzir avultadas quantidades de biogás e um efluente com potenciais propriedades fertilizantes.

## 4.2 Características e composição do inóculo

Nos ensaios mesofílicos foi utilizado um inóculo bacteriano recolhido em Abril de 2012 na ETAR de Chelas, em Lisboa, utilizado numa experiência anterior nos digestores anaeróbios da Unidade de Bioenergia do LNEG, para estudar a digestão anaeróbia da erva Vetiveria e aparas das relvas. Este substrato encontrava-se sem material biodegradável e não produzia biogás por si só, o que permitiu prescindir de efectuar ensaios em branco. Por outro lado o facto de ter participado na degradação de substratos vegetais tornava este inóculo mais adaptado à degradação dos ensilados do sorgo doce que as lamas da ETAR de Chelas.

Para os ensaios termofílicos subsequentes foi utilizado um inóculo bacteriano recolhido em Setembro de 2012 na Estação de Tratamento e Valorização Orgânica (ETVO) da Valorsul, em Belas, Lisboa. Este inóculo se afigura também como muito adequado à tarefa, visto conter uma população bacteriana acostuada a degradar um substrato misto, rico em matéria orgânica de diversas fontes, inclusivamente vegetais.

Foi efectuada a caracterização físico-química dos inóculos que se encontra apresentada nas tabelas 3 e 4.

Tabela - 5 Composição físico-química média do inóculo mesofílico utilizado nos ensaios

Parâmetros	Composição Média
pH	7,17
pRedox (mV)	-336,25
ST (g/l)	5,68
SV (g/l)	3,83
AGV (mg/l)	78,26
CQO (gO <sub>2</sub> /l)	6,21
Ntotal (g/l)	1,02
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g/l)	0,68
TOC (g/l)	2,068

A composição deste inóculo, sendo proveniente de ensaios efectuados anteriormente, é adequada para conduzir novos ensaios de digestão anaeróbia, tendo a concentração em matéria sólida (ST cerca de 5%) próximo do valor recomendado para estes ensaios descontínuos.

Salienta-se o baixo nível de ácidos gordos voláteis, indício que a actividade metanogénica anterior conseguiu esgotar a maior parte do substrato biodegradável. Revela ainda que as bactérias metanogénicas acetoclásticas, normalmente a fracção mais lenta de todo o consórcio, estavam com actividade regular. O valor do pH confirma que o processo decorreu dentro da normalidade. Igualmente, o potencial Redox apresenta um valor dentro da gama de referência (- 300 +/-30 mV). (Gerardi M., 2003)

Tabela - 6 Composição físico-química média do inóculo termofílico utilizado nos ensaios

Parâmetros	Composição Média
pH	7,74
pRedox (mV)	-84
ST (g/l)	30,5
SV (g/l)	18,4
SST (g/l)	36,4
SSV (g/l)	26,6
AGV (g/l)	1,03
CQO (gO <sub>2</sub> /l)	36,6
Ntotal (g/l)	9,2
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g/l)	6,4

As lamas provenientes da ETVO, apresentavam um valor de azoto amoniacal em níveis tóxicos (acima de 3 g/l) produzindo um cheiro muito intenso. O nível de ácidos orgânicos encontrava-se ligeiramente elevado. O valor de pH, influenciado pelo níveis elevados do azoto amoniacal, era alcalino, estando o potencial Redox num valor elevado e não favorável à digestão anaeróbia. (Gerardi M., 2003; Chen Y. *et al.*, 2007)

Concluiu-se, assim, que o digestor da ETVO não se encontrava num estado regular. Contudo apesar de ter valores de azoto amoniacal elevados conseguia produzir biogás e encontrava-se ainda activo e com actividade metanogénica. O consórcio biológico deve ter criado mecanismos de controlo interno que permitem proteger as bactérias acetoclásticas contra a toxicidade do azoto amoniacal. Por outro lado, o valor do pH que neste caso não é muito elevado, limita a conversão do azoto amoniacal em ião amónia, impedindo que o inoculo estivesse em condições de toxicidade, embora fosse inibido parcialmente. A empresa não revelou valores de produção de biogás, que poderiam ser inferiores aos normais.

Estas lamas foram postas numa incubadora a 50°C durante cerca de 30 dias de forma a promover a libertação do excesso de azoto amoniacal e melhorar o balanço da relação (C/N).

### 4.3 Resultados da biodegradação em mesofílico

#### 4.3.1 Características das amostras após a biodegradação

A experiência teve uma duração bastante longa, 60 dias, de forma a observar-se a degradação de compostos com hidrólise e acidificação mais demorada (gorduras, compostos com fibras, etc). No final dos ensaios retiraram-se amostras para a caracterização do resíduo degradado pelo processo de digestão. Na Tabela 7 apresentam-se os valores dos diferentes parâmetros obtidos nos reactores descontinuos.

Tabela - 7 Características do substrato no final dos ensaios de biodegradabilidade

Parâmetro	Var. 23402	Var. SUGAR T	Var. SUGARGRAZE
pH	7,23	7,06	7,10
pRedox (mV)	-34	-24	-27
ST (g/l)	5,50	5,78	5,61
SV (g/l)	3,48	3,78	3,60
SST (g/l)	7,24	7,42	7,25
SSV (g/l)	4,96	5,10	5,07
N-Total (g/kg)	1,42	1,48	1,34
NNH <sub>4</sub> -Total (g/kg)	0,83	0,82	0,76
CQOTotal (gO <sub>2</sub> /l)	8,17	8,70	8,02
AGV (mg/l)	393,52	447,35	278,07

Os valores da CQO e SV remanescentes indicam que existe ainda uma quantidade considerável de matéria orgânica que não foi degradada pelo processo de digestão anaeróbia, conforme os resultados que constam na tabela 7.

Durante a digestão os ácidos gordos voláteis formados foram degradados até valores baixos (menores que 0,5 g/l), confirmando um bom desempenho da actividade das bactérias acetoclásticas.

Os valores do pH estavam em condições óptimas para o processo. O potencial Redox apresenta valores superiores aos que se deveriam verificar durante a metanogénese.

O processo de digestão anaeróbia reduziu o teor de matéria orgânica (medido em SV) e aumentou o azoto amoniacal, sendo que parte do azoto orgânico foi convertido em azoto amoniacal. Na tabela 8 indica-se a quantidade de sólidos voláteis degradados.

Tabela - 8 Remoção de SV

Variedade de Substrato	SV Degradados (g/l)	SV Degradados (%)	Remoção de Azoto Orgânico (mg/l)	Remoção de Azoto Orgânico (%)
Var. 23402	5,64	61,9	150,09	20,22
Var. SUGAR T	5,62	59,8	140,19	17,67
Var. SUGARGRAZE	5,67	61,2	78,07	11,8

A taxa de remoção de SV é interessante, variando entre 61,9% e 59,8% e indicadora de uma digestão anaeróbia eficiente. A taxa de conversão do azoto orgânico foi baixa, não ultrapassando os 20,22%, indicativo de que as proteínas foram moderadamente degradadas durante o processo.

Tabela - 9 Composição lenhocelulósica dos efluentes

Parâmetro	Var. 23402	Var. SUGAR T	Var. SUGARGRAZE
Hemicelulose (g/kg)	15,51	21,02	39,62
Celulose (g/kg)	18,51	25,82	33,48
Lenhina (g/kg)	77,76	81,00	83,77

Tabela - 10 Degradação lenhocelulósica dos efluentes

Variedade de Substrato	Hemicelulose (g/kg)	Hemicelulose (%)	Celulose (g/kg)	Celulose (%)
Var. 23402	52,13	77,1	74,13	80
Var. SUGAR T	76,47	78,4	104,7	80,2
Var. SUGARGRAZE	38,74	49,4	77,58	69,9

Através da observação da Tabela 9 e da Tabela 10 verifica-se que ocorreu, durante a experiência, uma alteração significativa da composição de hemicelulose e celulose, sendo que a maioria de todo o material não biodegradado remanescente é constituído por lenhina, sob a forma de fibras lenhocelulósicas difíceis de hidrolisar e com baixa biodegradabilidade. Devido ao conteúdo elevado de lenhina presente nas lamas do inóculo, os valores de lenhina dos líquidos digeridos (Tabela 9) são superiores aos do substrato (Tabela 4). Da Tabela 10, observa-se que a Var. 23402 e a Var. SUGAR T apresentam desempenhos semelhantes com percentagens de degradação próximos um do outro ( $\approx 80\%$ ).

#### **4.3.2 Produção e composição do biogás**

Durante o período em que decorreram os ensaios procedeu-se diariamente à leitura e contabilização do biogás produzido, sendo realizada regularmente a caracterização da sua composição, com o analisador Gas Data LMSXI 5455.

Os gráficos da figura 9 representam as produções diárias de biogás (em ml) das variedades do substrato estudadas, permitindo deduzir que o processo metanogénico nos reactores arrancou com regularidade, tendo um comportamento estável durante todo o período da experiência, cuja duração foi de 60 dias. Após esse período, apesar de ainda se registar alguma produção de biogás, o volume medido era pouco relevante.

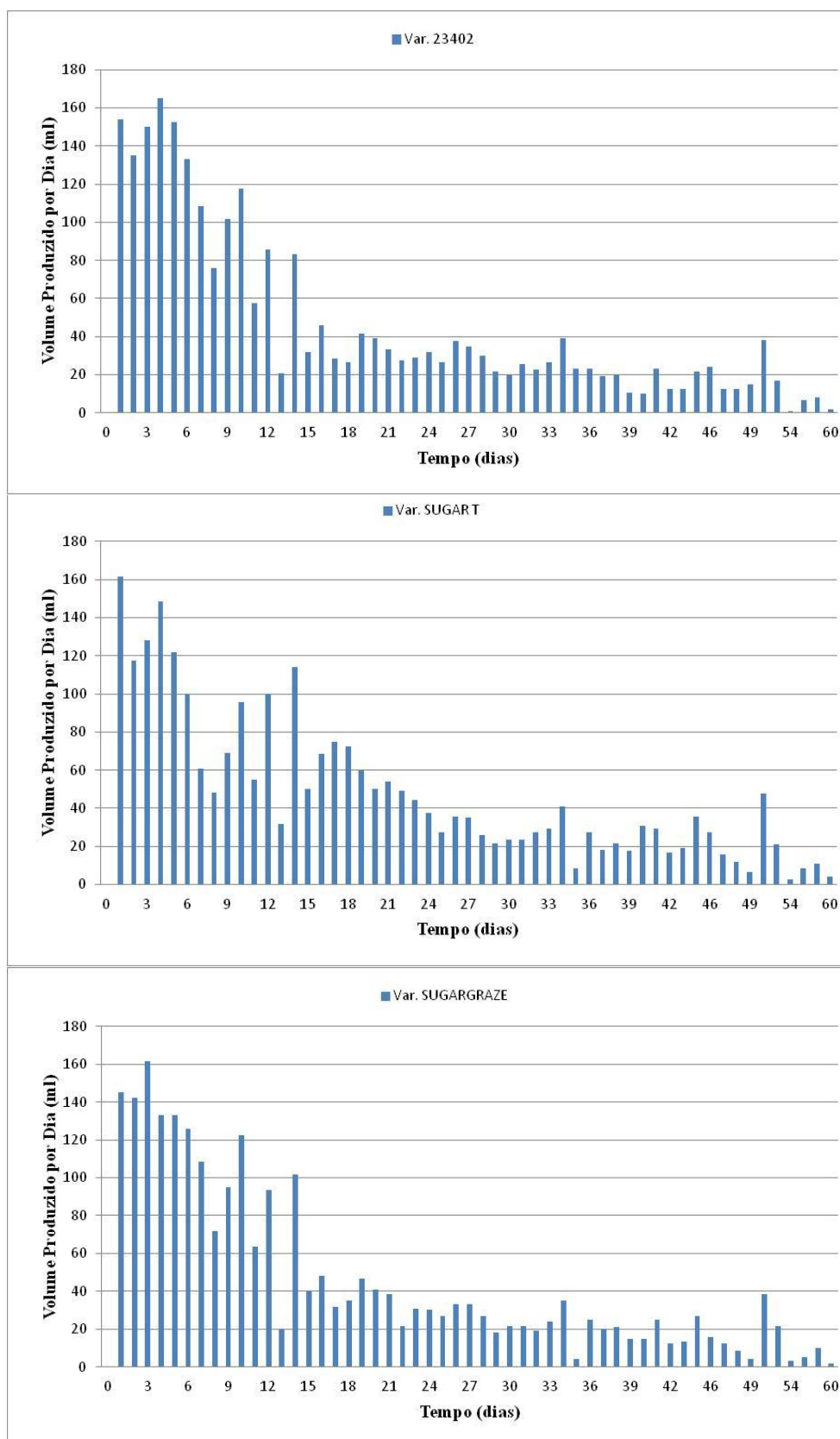


Figura - 9 Produções médias diárias de biogás (ml) das variedades dos substratos estudados.



Uma parte considerável da quantidade da produção diária de biogás (cerca de 60% da produção total) ocorreu nos primeiros 15 dias durante os quais a produção de biogás atingiu um patamar máximo, atenuando-se gradualmente ao longo da experiência em proporção directa ao substrato disponível. Esta situação resulta da decomposição dos compostos mais facilmente biodegradáveis, na fase inicial, e do ataque a materiais progressivamente mais difíceis no plano da decomposição. Este comportamento foi observado em todos os reactores, sendo portanto uma característica do substrato.

Os valores da produção acumulada de metano (média dos reactores em duplicado) e da composição do biogás, em termos do teor do metano ( $\text{CH}_4$ ), são apresentados nos gráficos da figura 10.

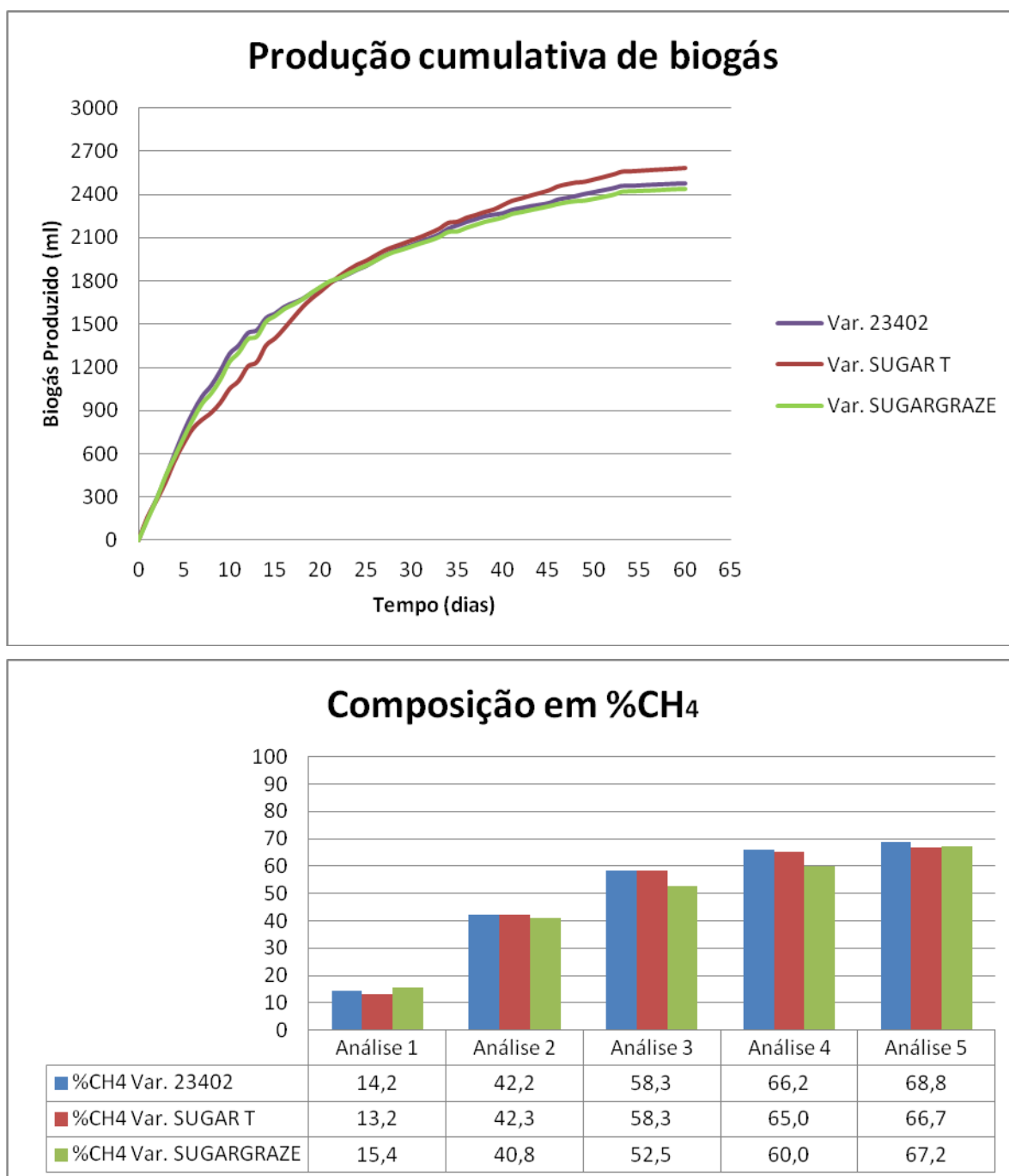


Figura - 10 Volume acumulado do metano produzido e da composição do biogás em  $\text{CH}_4$

A produção de biogás foi rápida e elevada, iniciando-se prontamente, destacando-se a ausência da fase de adaptação.

A produção total foi avultada para todos os três substratos, variando entre 2440 e 2585 ml.

No que respeita a percentagem em  $\text{CH}_4$ , verifica-se que, como os reactores foram purgados com azoto, a percentagem de  $\text{CH}_4$  nos primeiros dias é aparentemente inferior ao espectável face à diluição da mistura gasosa com o azoto. A partir da 2ª semana, o azoto foi completamente removido pelos sucessivos esvaziamentos dos tubos eudiométricos e a percentagem de metano nas análises seguintes representam os valores típicos do biogás.

Realça-se que os valores indicados, sendo da ordem do 67%, resultam um pouco superiores aos reais, devido à retenção de  $\text{CO}_2$  no líquido do reactor, que possui maior solubilidade em relação ao  $\text{CH}_4$ , que diminui o seu teor na fase gasosa. Tirando este aspecto, os valores finais representam a potencialidade do substrato. A variedade Var. 23402 apresenta um valor ligeiramente maior em relação às outras duas espécies.

No final do ensaio a produção acumulada de metano chegou a valores perto dos 1,75 litros, em média, como se pode ver na figura anterior.

Tabela - 11 Composição do biogás em  $\text{CO}_2$  e rácio  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$

	Var. 23402 (% $\text{CO}_2$ )	Var. 23402 ( $\text{CO}_2/\text{CH}_4$ )	Var. SUGAR T (% $\text{CO}_2$ )	Var. SUGAR T ( $\text{CO}_2/\text{CH}_4$ )	Var. SUGARGRAZE (% $\text{CO}_2$ )	Var. SUGARGRAZE ( $\text{CO}_2/\text{CH}_4$ )
Análise 1	12,17	0,86	14,16	1,07	12,35	0,80
Análise 2	20,50	0,49	22,20	0,52	18,67	0,46
Análise 3	26,33	0,44	26,25	0,45	26,33	0,47
Análise 4	29,33	0,44	27,50	0,42	27,25	0,45
Análise 5	25,40	0,37	25,83	0,39	25,17	0,37

Uma observação do rácio  $\text{CO}_2/\text{CH}_4$  da Tabela 11, permite inferir a evolução positiva da digestão anaeróbia com um gradual incremento do  $\text{CH}_4$  (o que é desejável) face à produção de  $\text{CO}_2$ . O elevado volume de biogás produzido e o teor do metano confirmam o bom desempenho dos ensaios e a adequação do inóculo utilizado.

No processo de digestão anaeróbia, a presença do sulfato é responsável por um conjunto de alterações dentro do sistema. Ao serem reduzidos os sulfatos nos digestores o gás sulfídrico ou ácido sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ) é o produto resultante e este composto é inibidor da actividade das bactérias metanogénicas. Este gás é tóxico, incolor, muito corrosivo, possui um característico mau odor. Por estas razões este gás é um produto inconveniente para todos os equipamentos e ambientes.

Quando a matéria prima contém sulfatos, as bactérias redutoras de sulfato concorrem pelo substrato orgânico com as bactérias metanogénicas, e efectuem a conversão em sulfídrico, que se liberta na fase gasosa. (Gerardi M., 2003)

A Tabela 12 apresenta os valores da composição média e máxima de  $\text{H}_2\text{S}$  em fase gasosa.

Tabela - 12 Composição Média e Máxima de  $\text{H}_2\text{S}$

Composição	Var. 23401 (ppm)	Var. SUGAR T (ppm)	Var. SUGARGRAZE (ppm)
Média	154,5	182,6	157,5
Máxima	217	248	216

Neste caso, os valores de  $H_2S$  encontram-se abaixo dos 200 ppm o que é um valor aceitável para a queima directa cujo valor máximo recomendado é de 250 ppm. Para a produção de electricidade via um gerador de combustão interna recomenda-se valores abaixo dos 100 ppm e para injeção na rede de gás natural requer uma purificação para níveis inferiores a 4 ppm. Será de esperar que no final da experiência, todos os compostos sulfatados existentes nos reactores tenham sido consumidos pelas bactérias redutoras de sulfato. (Gayh *et al.*, 2010; Zicari, 2003; Amirfakhri *et al.*, 2006; Sublette and Sylvester, 1987a)

Na Tabela 13 constam os volumes totais de biogás e metano, a percentagem de metano no final do ensaio, a média de metano produzido por dia e as quantidades de matéria orgânica (em SV) degradada.

Tabela - 13 Biogás e metano total produzidos e matéria orgânica degradada

Substrato	Biogás Total Produzido (ml)	CH <sub>4</sub> Total Produzido (ml)	Teor de CH <sub>4</sub> Final (%)	Média CH <sub>4</sub> Produzido (ml/dia)	SV Degradados (g/l)
Var. 23402	2474	1702	68,8	28,5	5,64
Var. SUGAR T	2584	1723	66,7	28,9	5,62
Var. SUGARGRAZE	2439	1638	67,2	27,6	5,67

Na Tabela 14 a comparação dos valores de produção total de biogás e específica de CH<sub>4</sub> revela a potencialidade e a diferença de produção por cada variedade de substrato, tanto por tonelada de matéria seca como por tonelada de SV introduzidos.

Tabela - 14 Produção específica média de biogás

Parâmetro	Var. 23402	Var. SUGAR T	Var. SUGARGRAZE
Biogás (m <sup>3</sup> /ton)	238,54	261,46	245,42
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton)	141,85	143,56	136,53
Biogás (m <sup>3</sup> /ton SV)	668,27	663,39	640,50
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton SV)	459,80	442,29	430,23
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton SV) em PTN	420,37	404,36	393,34

A taxa específica de metano produzido por estes substratos apresentam valores que se enquadram dentro da faixa média-alta, como descrito na literatura (Tabela 15), existindo algumas culturas energéticas capazes de produzir mais metano que o substrato estudado. Salienta-se que, neste caso, o Sorgo Doce estudado é o resíduo resultante da extracção do seu sumo e não a planta inteira. Assim, este resultado pode ser interpretado como muito positivo, uma vez que a produção de metano é comparável com os valores obtidos por certas culturas energéticas, em que a planta é inteiramente utilizada para o mesmo fim, como se pode ver na Tabela 15.

Tabela - 15 Valores da produção específica de CH<sub>4</sub> de diferentes culturas energéticas

Substrato	m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> .t <sup>-1</sup> SV	Ref.	Substrato	m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> .t <sup>-1</sup> SV	Ref.
Aveia	250 – 260	2	Tremoço Ornamental	310 – 360	3
Azevém	390 – 410	1	Luzerna	320 – 500	1,3
Batata	276 – 400	1	Milho	205 – 450	1
Beterraba Forrageira	360 – 500	1,3	Nabo	314	1
Beterraba Sacarina	236 – 381	1	Pastagem	298 – 467	1
Beterraba Sacarina (rama)	360 – 380	3	“	270 – 420	3
Cevada	353 – 658	1	Triticale	337 – 555	1
Colza	240 – 340	1	Girassol	154 – 400	1
Erva do Sudão	213 – 303	1	Girassol Batateiro	300 – 370	1
Ervilha	390	1	Sorgo Doce	270 – 400	4

–1 - Braun *et al.*, (2009); 2 - Kaparaju *et al.* (2002); 3 - Lehtomäki (2006); Jerger D.E. *et al.* (1987).

#### 4.4 Resultados da biodegradação em termofílico

##### 4.4.1 Características das amostras antes da biodegradação

No início do ensaio retiraram-se as amostras para a caracterização do substrato utilizado para a alimentação os reactores. Na Tabela 16 apresentam-se os valores dos diferentes parâmetros obtidos no início do ensaio, antes do fecho dos reactores descontínuos.

Tabela - 16 Características dos reactores no inicio dos ensaios de biodegradabilidade

Parâmetro	Controlo	PT-BT	PT-AT	Controlo Enzimas	PT-Enzimas
pH	7,9	7,6	7,8	7,8	7,5
p.Redox (mV)	-77	-56	-72	-66	-51
ST (g/l)	7,6	6,4	6,6	8,7	13,1
SV (g/l)	4,5	3,8	3,9	5,6	8,1
SST (g/l)	5,2	4,7	4,5	5,1	5,6
SSV (g/l)	3,7	3,5	3,3	3,9	4,4
CQOTotal (gO <sub>2</sub> /l)	5,7	5,7	5,4	7,7	10,4
AGV (mg/l)	136	104	275	96	134

A composição dos reactores resultante da mistura entre inóculo e substrato, enquadra-se na gama de valores que são normalmente utilizados para os ensaios de degradação anaeróbia. A concentração de material celular, medido em termos de SSV, era adequado (3,6 g/l) para a condução do processo experimental.

Os valores do pH encontram-se um pouco acima da neutralidade mas dentro de valores funcionais para efectuar o ensaio de metanogénese. (Gerardi M., 2003).

Os valores da CQO nos digestores Controlo Enzimas e PT-Enzimas, são significativamente mais elevados que nos outros devido à contribuição da solução tampão citrato de sódio 0,1 M, utilizada no pré-tratamento enzimático, que contribuiu para aumentar em cerca de 1,1 gO<sub>2</sub>/l o valor da CQO dos enzimas, atingindo os 1,7 gO<sub>2</sub>/l (tabela 16).

#### 4.4.2 Características das amostras após a biodegradação

No final do ensaio retiraram-se amostras para a caracterização do líquido resultante do processo digestivo. Na Tabela 17 apresentam-se os valores dos diferentes parâmetros, após um período de digestão de 39 dias, nos reactores descontínuos.

Tabela - 17 Características do substrato no final dos ensaios de biodegradabilidade

Parâmetro	Controlo	PT-BT	PT-AT	Controlo Enzimas	PT-Enzimas
pH	7,3	9,6	9,8	9,7	9,8
pRedox (mV)	-59,3	-184,0	-193,0	-184,7	-195,3
ST (g/l)	5,2	5,5	6,5	5,9	8,8
SV (g/l)	2,9	3,1	3,7	3,4	4,1
SST (g/l)	2,9	2,7	3,6	4,0	4,5
SSV (g/l)	2,5	2,1	2,8	3,1	3,3
N-Total (g/l)	1,7	1,6	1,6	1,7	1,9
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (g/l)	1,3	1,2	1,2	1,3	1,3
CQOTotal (gO <sub>2</sub> /l)	4,0	4,0	4,1	5,1	5,6
AGV (mg/l)	373	130	105	221	93

Os valores da CQO do líquido em fermentação remanescente nos reactores indicam que existe ainda uma quantidade importante de matéria orgânica que não foi biodegradada pelo processo de digestão anaeróbia.

Este residual é bastante elevado, se se tiver em conta a duração relativamente longa da experiência (39 dias) e a utilização de um ensaio em termofílico, normalmente capaz de degradar mais compostos que o ensaio a temperatura mesofílica.

Durante a digestão os ácidos voláteis foram degradados à medida em que eram formados, ficando valores finais baixos, e provando o bom desempenho da actividade das bactérias acetoclásticas. A carga remanescente é devida a compostos com hidrólise mais difícil (gorduras, compostos com fibras, etc).

Com excepção do reactor de controlo todas as amostras apresentam valores de pH elevados, devido à eliminação de ácidos orgânicos durante o processo da digestão e á degradação das proteínas e consequente presença de azoto amoniacal. O potencial Redox apresenta valores superiores ao que deveria ter na metanogénese (Gerardi M., 2003).

A Tabela 18 apresenta os valores da redução da matéria em suspensão, devido à hidrólise da matéria orgânica, (medido em SSV) efectuado pelo processo de digestão anaeróbia. Os valores de CQO degradado, observados nesta tabela, permitem concluir que ocorreu maior degradação nos reactores que contêm enzimas.

Tabela - 18 Remoção de SSV e CQO

Amostra	SSV Degradados (g/l)	SSV Degradados (%)	CQO degradado (g/l)	CQO degradado (%)
Controlo	1,2	33	1,7	30,2
PT-BT	1,3	38,5	1,7	30,2
PT-AT	0,5	15	1,3	24,5
Controlo Enzimas	0,9	22,2	2,7	34,4
PT-Enzimas	1,1	24,8	4,9	46,6

Tabela - 19 Composição lenhno-celulósica dos efluentes

Parâmetro	Controlo	PT-BT	PT-AT	Controlo Enzimas	PT-Enzimas
Hemicelulose (g/kg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Celulose (g/kg)	21,31	16,05	22,86	21,92	15,49
Lenhina (g/kg)	31,75	22,67	36,20	34,67	26,59

Pela Tabela 19, pode-se concluir que o material orgânico remanescente é sobretudo lenhina, encontrando-se em forma de fibras lenhocelulósicas difíceis de hidrolisar com biodegradabilidade baixa e pouco influenciada pelo tempo de retenção. Como no caso do ensaio mesofílico, uma parte da carga orgânica não digerida remanescente pode ser resultante do inóculo adicionado ao substrato, dado que os valores de lenhina no líquido digerido são superiores aos valores encontrados no substrato antes da degradação.

Tabela - 20 Degradação dos compostos orgânicos do substrato

Amostra	Hemicelulose (g/kg)	Hemicelulose (%)	Celulose (g/kg)	Celulose (%)
Controlo	67,64	100	71,33	77,0
PT-BT	67,64	100	76,59	82,7
PT-AT	67,64	100	69,78	75,3
Controlo Enzimas	67,64	100	70,72	76,3
PT-Enzimas	67,64	100	77,15	83,3

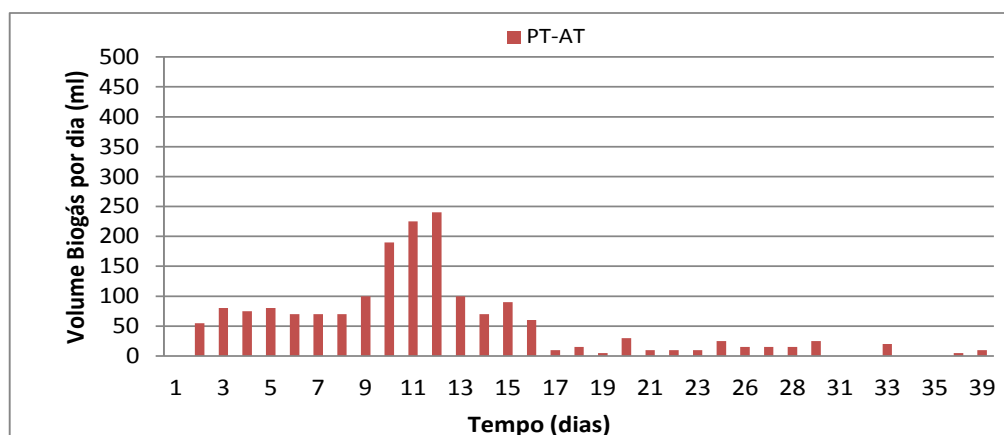
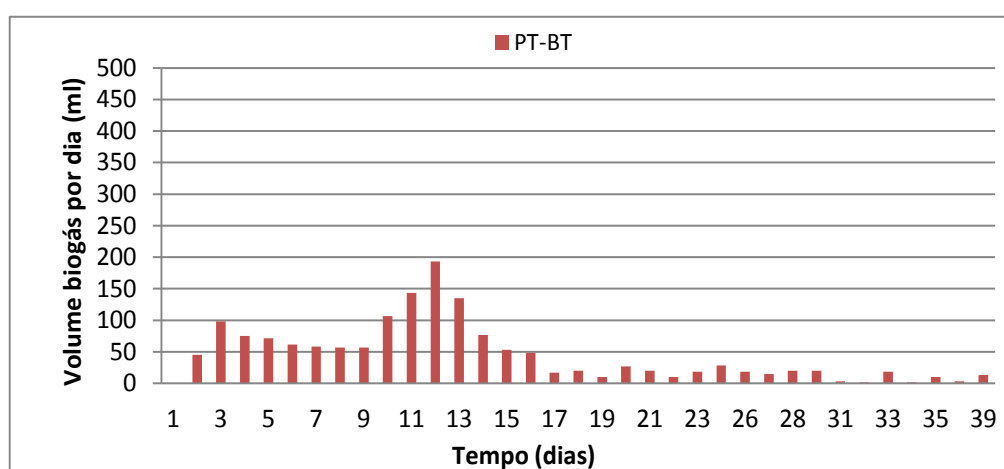
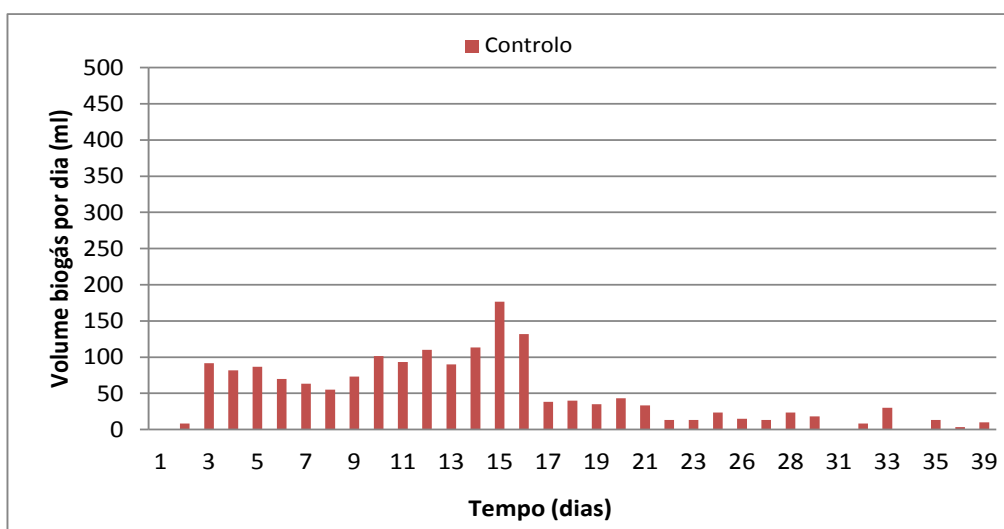
De uma forma global, o processo foi muito bem sucedido, resultando no consumo total da hemicelulose e de uma elevada percentagem de celulose. Destacam-se as amostras PT-Enzimas e PT-BT com uma maior percentagem de celulose degradada.

#### 4.4.3 Produção e composição do biogás

No decorrer dos ensaios procedeu-se diariamente à leitura e contabilização do biogás produzido, sendo realizada regularmente a caracterização da composição do biogás, com o analisador Gas Data LMSXI 5455.

A evolução da produção de biogás revela que o processo metanogénico nos reactores termofílicos, com excepção dos reactores com ataque enzimático, sofreu uma fase de adaptação e preparação bastante longa, atingindo a máxima produção diária depois de 10-25 dias depois do início do arranque. Inclusivamente, nos primeiros 3 dias, verificou-se acidogénese em alguns reactores.

Nos gráficos da figura 12 apresentam-se as produções diárias de biogás (em ml) das amostras estudadas.



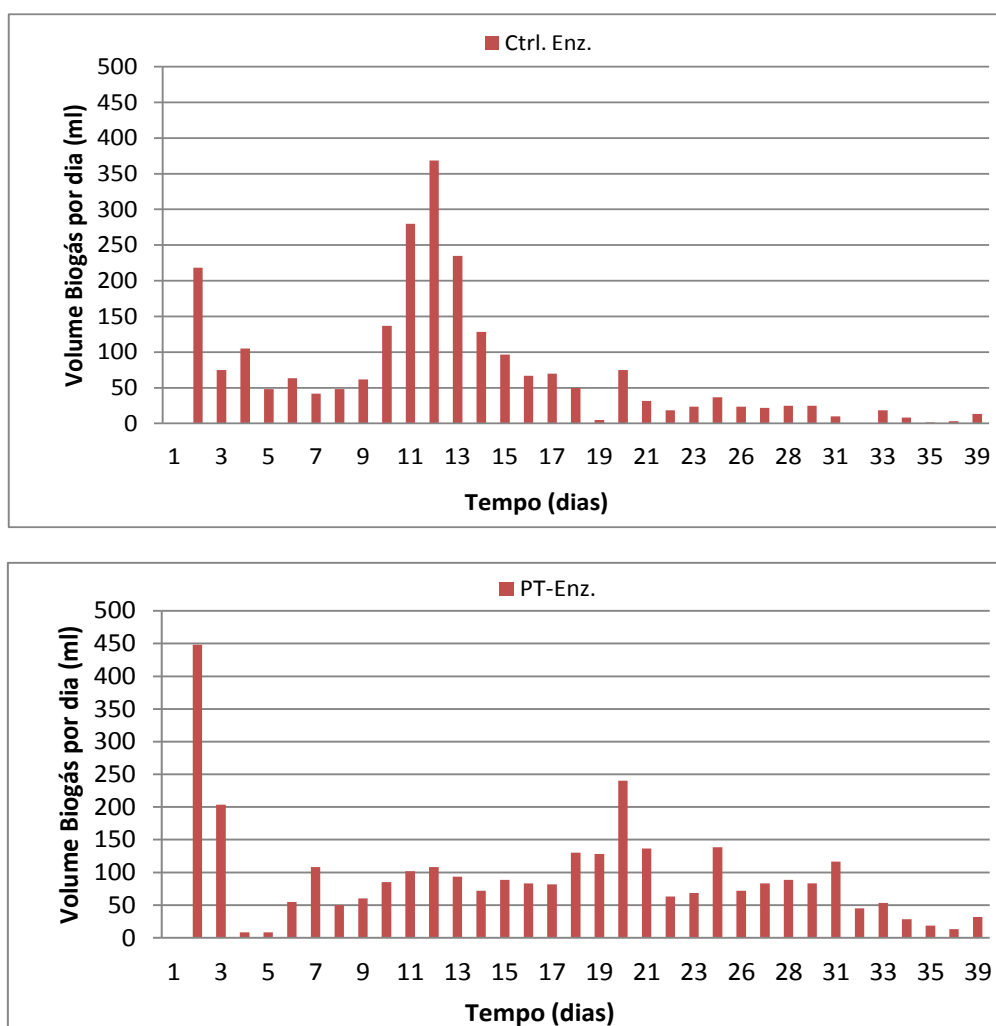


Figura - 11 Produções médias diárias de biogás (em ml) das amostras estudadas

Nas primeiras duas semanas dos ensaios existe uma maior produção de biogás, com a excepção dos reactores com pré-tratamento enzimático. Nos restantes reactores, após atingirem a fase de pico, esta actividade reduz-se gradualmente, à medida em que os compostos mais facilmente biodegradáveis escasseiam, visto terem sido convertidos em Biogás.

Nos reactores com pré-tratamento enzimático existe uma forte produção inicial. Uma possível causa para este pico poderá ter origem na matéria orgânica da solução tampão citrato de sódio (0,1 M), um substrato facilmente assimilável que favorece a acidificação dos reactores e a libertação de  $\text{CO}_2$ . Esta hipótese é confirmada pelos resultados de uma análise intermédia, que revelou valores de AGV na ordem dos 3 g/l. A seguir, como se pode verificar pelo gráfico e pela composição do biogás, os reactores normalizaram retomando a produção de metano.

Os valores da produção acumulada média de metano (dos reactores em triplicado) e da composição do biogás, em termos do  $\text{CH}_4$ , são apresentados nos gráficos da figura 13 (Nota: Não foram analisados os valores da percentagem de metano nas amostras durante a 3ª e 4ª análise por facto dos reactores não terem produzido gás suficiente para análise).



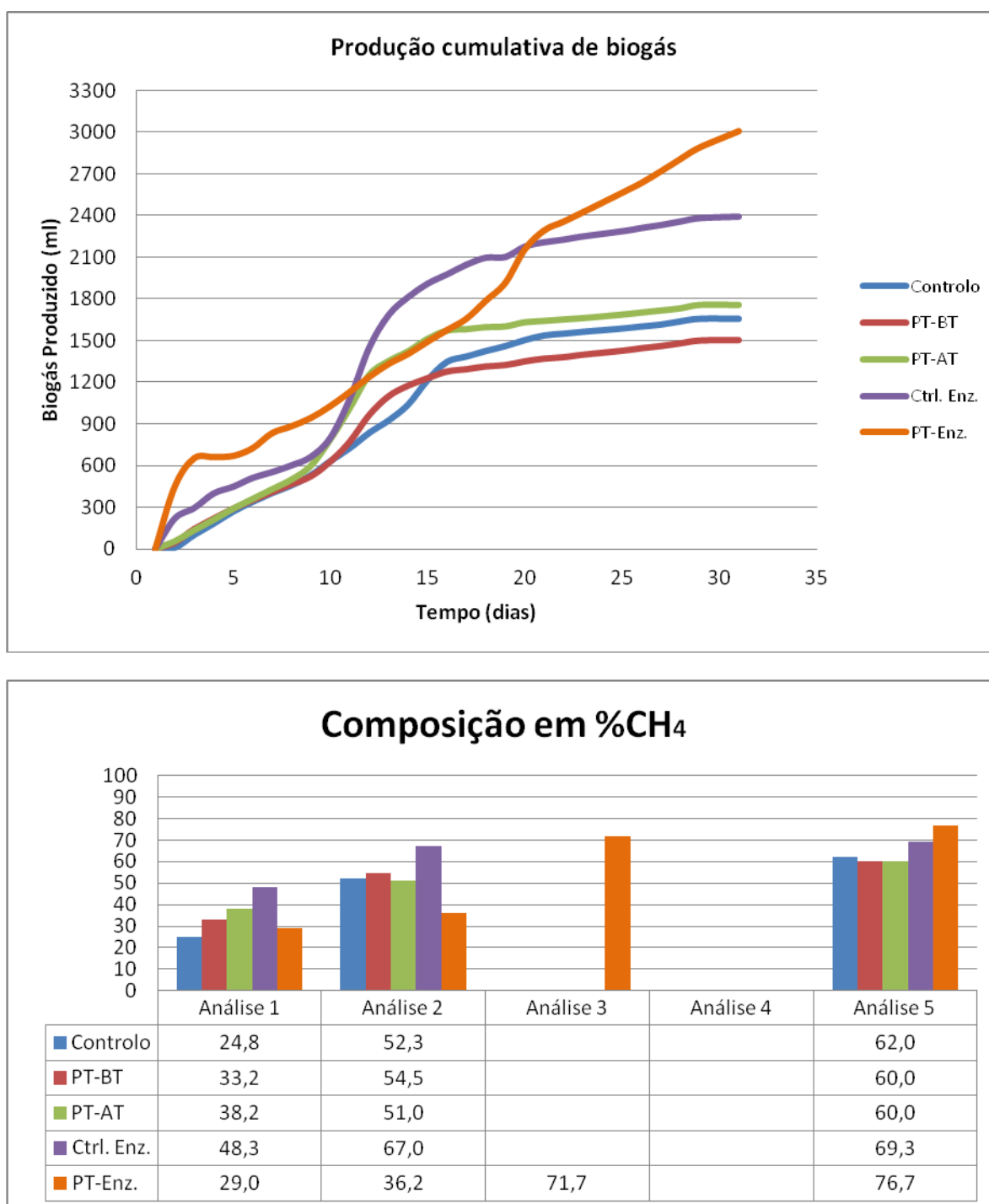


Figura - 12 Volume acumulado do metano produzido e da composição do biogás em CH<sub>4</sub>

Em todos os digestores, excepto os digestores contendo a amostra PT-Enzimas, houve um aumento da taxa de produção de biogás a partir da 1ª semana, sofrendo uma fase de adaptação, em que o sistema foi ajustando às condições para o desenvolvimento do processo. Este comportamento pode ser atribuído ao estado do inóculo, que esteve sem alimento durante mais de 15 dias, tendo reduzido a sua população de bactérias e, consequentemente, pode ter demorado a entrar em exercício.

Na segunda análise efectuada à composição do biogás, os valores de percentagem de metano são afectados pela presença do azoto utilizado para a a purga inicial dos reactores e, no caso do PT-Enzimas, a composição rica em CO<sub>2</sub> revela a ocorrência de acidogénese no início dos ensaios (Tabela 21). Os reactores com as amostras de Controlo Enzimas e PT-Enzimas apresentam uma percentagem

de metano final bastante elevada, na gama dos 70%, este resultado pode ter como explicação a participação dos enzimas. No que respeita ao desempenho dos pré-tratamentos, o mais vantajoso aparenta ser o pré-tratamento enzimático, que produziu mais biogás, com percentagem de CH<sub>4</sub> acima dos 70%, a partir da 3ª análise. Na apreciação dos resultados é necessário destacar que todos os ensaios termofílicos utilizaram a mesma variedade (Var. 23402) do Sorgo Doce e que, no pré-tratamento enzimático, uma fracção de metano é gerada pela degradação da solução tampão nos reactores, cujo montante deve ser retirado nos cálculos da produção e produtividade que se apresentam a seguir.

No final do ensaio a produção acumulada de biogás nos digestores com enzimas atingiu volumes de produção acima de ≈ 2400 ml, os restantes reactores estão no intervalo entre os 1500 e 1800 ml.

Tabela - 21 Composição do biogás em CO<sub>2</sub> e rácio CO<sub>2</sub>/CH<sub>4</sub>

	Controlo (%CO <sub>2</sub> )	Controlo (CO <sub>2</sub> / CH <sub>4</sub> )	PT-BT (%CO <sub>2</sub> )	PT- BT (CO <sub>2</sub> / CH <sub>4</sub> )	PT-AT (%CO <sub>2</sub> )	PT- AT (CO <sub>2</sub> / CH <sub>4</sub> )	Ctrl. Enz. (%CO <sub>2</sub> )	Ctrl. Enz. (CO <sub>2</sub> / CH <sub>4</sub> )	PT-Enz. (%CO <sub>2</sub> )	PT- Enz. (CO <sub>2</sub> / CH <sub>4</sub> )
<b>Análise 1</b>	31,67	1,28	24,00	0,72	24,67	0,65	23,67	0,49	38,00	1,31
<b>Análise 2</b>	20,00	0,38	19,67	0,36	17,50	0,34	20,00	0,30	37,00	1,02
<b>Análise 3</b>	*	*	*	*	*	*	*	*	20,33	0,28
<b>Análise 4</b>	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>Análise 5</b>	20,67	0,33	21,00	0,35	19,00	0,32	18,67	0,27	15,33	0,20

Nota: Os resultados representados por (\*) correspondem a medições não efectuadas por insuficiência volumétrica de biogás para análise.

Pelo volume e pelo teor de metano do biogás produzido é possível deduzir-se que o desempenho dos ensaios foi regular para a maioria das amostras. No que diz respeito à concentração do composto indesejável H<sub>2</sub>S analisa-se a figura 14.

Tabela - 22 Composições Médias e Máximas de H<sub>2</sub>S

Composição	Controlo (ppm)	PT-BT (ppm)	PT-AT (ppm)	Controlo Enzimas (ppm)	PT-Enzimas (ppm)
Média	211	295	187	339	581
Máxima	345	399	338	597	1000

Os valores de H<sub>2</sub>S encontram-se todos, em média, acima dos 200 ppm, sendo que todas as amostras, com a excepção do controlo e do PT-AT, necessitam de tratamento adequado do biogás, para este poder ser usado como combustível de motores-geradores, sem quaisquer restrições. Como no caso do ensaio mesofílico, a concentração reduzida da última análise de H<sub>2</sub>S, indica que no final da experiência todos os compostos sulfatados existentes nos reactores tinham sido consumidos. (Gayh *et al.*, 2010; Zicari, 2003; Amirfakhri *et al.*, 2006; Sublette and Sylvester, 1987a)

Na Tabela 23 constam os volumes totais de biogás e metano produzidos, a percentagem de metano no final do ensaio e as quantidades de matéria orgânica (em termos de SV) degradados.

Tabela - 23 Biogás total produzido e matéria orgânica degradada

Substrato	Biogás Total Produzido (ml)	CH <sub>4</sub> Total Produzido (ml)	Teor de CH <sub>4</sub> Final (%)	Média CH <sub>4</sub> Produzido (ml/dia)	SSV Degradados (g/l)
Controlo	1722	1067	62,0	27,9	1,2
PT-BT	1555	933	60,0	24,1	1,3
PT-AT	1795	1077	60,0	27,8	0,5
Ctrl. Enz.	2433	1687	69,3	43,3	0,9
PT-Enz.	2713	1968	76,7	54,1	1,1

Nota: Para o caso do pré-tratamento enzimático foi necessário descontar o metano potencial produzido devido à digestão da solução tampão Citrato de Sódio (aproximadamente 480 ml de CH<sub>4</sub>).

Na Tabela 24 a comparação dos valores de produção total de biogás e específica de CH<sub>4</sub> revela a potencialidade e a diferença de produção por cada amostra, tanto por tonelada de matéria orgânica como por tonelada de SV.

Tabela - 24 Produção específica média de biogás

Parâmetro	Controlo	PT-BT	PT-AT	Ctrl. Enz.	PT-Enz.
Biogás (m <sup>3</sup> /ton)	143,50	129,58	149,58	202,75	266,08
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton)	88,95	77,75	89,75	140,59	164,02
Biogás (m <sup>3</sup> /ton SV)	465,14	420,03	484,86	657,19	732,82
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton SV)	288,33	252,02	290,91	455,71	531,65
CH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> /ton SV) em PTN	266,47	232,91	268,86	421,16	491,33

O metano produzido apresenta valores elevados apenas nos ensaios com a participação de enzimas enquanto os restantes estão abaixo do valor obtido no ensaio mesofílico da variedade 23402. O resultado obtido com o pré-tratamento enzimático é muito positivo, uma vez que a produção de metano é superior aos obtidos por várias culturas energéticas utilizadas unicamente para esse efeito, como se pode ver na Tabela 25.

#### 4.5 Potencial Energético

No laboratório do LNEG de Alfragide foi elaborado em simultâneo uma análise que determinou o calor específico e o teor de humidade do bagaço de sorgo (Tabela 26) de acordo com as respectivas normas EN 15400 e EN 14774-1. Estas análises permitem obter os dois parâmetros de forma a determinar o potencial energético do substrato.

Tabela - 25 Calor específico do bagaço de Sorgo

Amostra	Calor específico (MJ/kg)	Humidade (%)
Var. 23402	17,5	72,4
Var. SUGAR T	16,5	63,3
Var. SUGARGRAZE	17,9	66,9

Considerando uma produção média de Sorgo Doce de 80 ton/ha e a sua percentagem de água é possível estimar a energia calorífica total presente na matéria seca (MS) dos ensilados (Tabela 27).

Tabela - 26 Energia calorífica estimada dos ensilados

Amostra	kg/ha MS	kWh/kg	kWh/ha
Var. 23402	22080	4,86	107333,3
Var. SUGAR T	29360	4,58	134566,7
Var. SUGARGRAZE	26480	4,97	131664,4

Tendo que, em média, se produz 0,424 m<sup>3</sup> de bioetanol celulósico por tonelada de matéria seca e o poder calorífico de bioetanol é de 29700 kJ/kg pode-se então estimar a percentagem de energia térmica convertida (Tabela 28). (Grooms 2008)

Tabela - 27 Energia convertida pela produção de bioetanol celulósico

Amostra	m <sup>3</sup> /ha	kWh/ha	% energia convertida
Var. 23402	9,36	17787,65	16,57
Var. SUGAR T	12,45	23652,42	17,58
Var. SUGARGRAZE	11,23	21332,29	16,20

Relembrando a produção de metano, e a sua qualidade, em regime mesofílico (Figura 10; Tabela 12) é possível estimar a energia convertida (Tabela 29).

Tabela - 28 Energia convertida pela produção de biogás em regime mesofílico

Amostra	kg/ha MS	m <sup>3</sup> /ha	kWh/ha	% energia convertida
Var. 23402	22080	5266,96	36250,17	33,77
Var. SUGAR T	29360	7676,47	51324,16	38,14
Var. SUGARGRAZE	26480	6498,72	43449,87	33,00

Os mesmos cálculos podem ser efectuados em regime termofílico (Figura 13; Tabela 21) estimando-se assim a energia convertida (Tabela 30).

Tabela - 29 Energia convertida pela produção de biogás em regime termofílico

Amostra	kg/ha MS	m <sup>3</sup> /ha	kWh/ha	% energia convertida
Controlo	22080	3168,48	19610,12	18,27
PT-BT	22080	2861,20	17116,07	15,95
PT-AT	22080	3302,80	19757,78	18,41
Ctrl. Enz.	22080	4476,72	30811,27	28,71
PT-Enz.	22080	4991,92	37818,71	35,23

Nesta análise preliminar os resultados sugerem uma larga vantagem da digestão anaeróbia sobre a fermentação alcoólica, reultando que a produção de biogás obtida em regime mesofílico possui cerca do dobro da energia convertida quando comparado com bioetanol celulósico.

Em regime termofílico os ensaios efectuados não são conclusivos, uma vez que apresentam um maior grau de conversão da matéria orgânica e uma menor produção de biogás. O estado do inóculo poderá ser a razão pela baixa produção observada, que deveria ter sido 20-30 % superior aos valores obtidos no regime mesofílico.

Merecem um destaque os ensaios que utilizaram enzimas, que tiveram sucesso em libertar a lenhina e hemicelulose dos ensilados. Será necessário estudos adicionais para confirmar se os ganhos de energia ao fazer o pré-tratamento enzimático compensam a energia adicional gasta para tornar o processo termofílico e o custo da solução tampão utilizada no pré-tratamento.

## 5. Conclusões

O objectivo deste trabalho foi alcançado com a conclusão de que ensilados de sorgo doce podem ser usados de forma eficaz com o processo de digestão anaeróbia para produzir biogás. Os valores de produção teórica (em  $\text{m}^3\text{CH}_4/\text{ton SV}$ ) em regime mesofílico são surpreendentemente elevados, quando comparados a outras culturas energéticas, para um biocombustível de "segunda geração" (produzido por resíduos orgânicos compostos principalmente por celulose e hemicelulose).

Este substrato é pouco rico em sulfatos e, em regime mesofílico, o biogás possui valores finais de  $\text{H}_2\text{S}$  que permitem o uso alargado em motores-geradores, sem necessitar de um tratamento específico. Com estes resultados a possibilidade de produção em larga escala de biogás com base nesta cultura energética parece promissora e pode aumentar significativamente o valor do sorgo sacarino como cultura energética para fins múltiplos. A viabilidade depende da política energética nacional e dos subsídios que poderão ser concedidos ao cultivo desta biomassa e á sua fileira bioenergética.

Todas as variedades de ensilados de sorgo doce ensaiadas responderam bem ao processo de digestão anaeróbia em mesofílico, destacando-se a Var. SUGAR T como o substrato superior para a produção de biogás.

No regime termofílico, os resultados obtidos estão aquém dos esperados, provavelmente por causa do inóculo utilizado, que poderá ter afectado a decepcionante taxa de produção de metano, em relação aos ensaios mesofílicos. Os reactores com pré-tratamento enzimático, actuaram favoravelmente sobre o substrato durante a digestão anaeróbia, apresentando resultados superiores na produção de biogás em relação aos outros pré-tratamentos.

O pré-tratamento térmico aplicado a baixa temperatura teve um desempenho surpreendentemente baixo, tendo em conta os elevados valores de degradação de celulose observados na Tabela 20. Uma possível explicação poderá ser que, durante o processo do pré-tratamento, a celulose tenha sido degradada em compostos pouco biodegradáveis. O pré-tratamento em alta temperatura teve um desempenho semelhante ao controlo, podendo-se concluir que este pré-tratamento não afectou o substrato de forma significativa.

Os ensaios efectuados mostram também que a lama resultante do processo da digestão anaeróbia tem uma composição adequada como fertilizante de solo de cultivo.

Este estudo proporciona outras perspectivas igualmente interessantes de investigação futura, como por exemplo: a utilização de inóculo com base em efluentes de gado ruminante, cujas bactérias são optimizadas para degradar resíduos lenhocelulósicos, sendo possível que se registre um aumento significativo da eficiência do processo; o estudo do comportamento do processo da digestão anaeróbia sob condições mesofílicas, após a realização do pré-tratamento enzimático adequado em condições termofílicas (gama de temperaturas em que os enzimas funcionam melhor), podendo ainda complementar este procedimento com a realização de uma avaliação para verificar a relação custo-benefício da aplicação do pré-tratamento; por último e tendo em conta que os resíduos de sorgo doce foram armazenados em condições de ensilagem por um ano, pode-se considerar a aplicação de pré-tratamentos biológicos que são, normalmente, proibitivamente demorados. Como a aplicação de alguns fungos de degradação branca que são considerados como um pré-tratamento eficaz e barato (pré-tratamentos com um mínimo de 30 dias). (Isroi *et al.*, 2011)

## 6. Referências

- Ferreira S., Moreira F., Monteiro E. 2009. Bioenergy overview for Portugal. *Biomass and Bioenergy* 33, 1567-1576.
- O. Bréas; C. Guillou; F. Reniero; E. Wada. 2001. The Global Methane Cycle: Isotopes and Mixing Ratios, Sources and Sinks.
- Cordell D.; Drangert J.; White S. 2009. The story of phosphorous: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change* 19, 292-305.
- Dawson C.J.; Hilton, J. 2011. Fertilizer availability in a resource-limited world: Production and recycling of nitrogen and phosphorous. *Food Policy* 36, S14-S22.
- Reddy BVS e Sanjana Reddy P. 2003. Sweet sorghum: characteristics and potential. *International Sorghum and Millets Newsletter* 44: 26-28.
- Matsakas L., Christakopoulos P. 2013. Fermentation of liquefacted hydrothermally pretreated sweet sorghum bagasse to ethanol at high-solids content. *Bioresource Technology* 127, 202-208.
- Jerger D.E., Chynoweth D.P., Isaacson H.R. 1987. Anaerobic Digestion of Sorghum Biomass. *Biomass* 0144-4565/87.
- Grassi G. 2005, Low cost production of bioethanol from sweet sorghum, EUBIA, Brussels.
- Köppen S., Reinhardt G., Gärtner S. 2009. Assessment of Energy and Greenhouse Gas Inventories of Sweet Sorghum for First and Second Generation Bioethanol. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Sancho-Redondo J. 2007. Ensayo de nuevas variedades de sorgo dulce [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] en las condiciones de Beira Interior, Portugal. ESA/IPCB, Castelo Branco.
- Huligol RV, Ramakrishna, Misale G. 2004. A trial with sweet sorghum. CFC and ICRISAT, 2004. Alternative uses of sorghum and pearl millet in Asia: proceeding of the Expert Meeting, pages 333-337.
- Ratanavathi CV, Biswass PK, Pallavi M, Maheswari M, Vijay Kumar BS e Seetharama N. 2004. Alternative uses of Sorghum-Methods and Feasibility: Indian Perspective. CFC and ICRISAT. 2004 Pages 188-200 in Alternative uses of sorghum and pearl millet in Asia.
- Soltani A. e Almodares A. 1994. Evaluation of the investments in sugar beet and sweet sorghum production. National Convention of Sugar Production from Agriculture Products, 13-16, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.
- Dayakar Rao B, Ratnavathi CV, Karthikeyan K, Biswas PK, Rao SS, Vijay Kumar BS e Seetharama N. 2004. "Sweet sorghum can for bio-fuel production: A SWOT analysis in Indian context", National Research Centre for Sorghum, Rajendranagar, Hyderabad, AP 500 030. India. 20pp.
- Belum VS Reddy, S Ramesh, P Sanjana Reddy, B Ramaiah, PM Salimath e Rajashekar Kachapur. 2005. Sweet Sorghum – A Potential Alternate Raw Material for Bio-ethanol and bioenergy.
- Ram B. Gupta e Ayhan Demirbas. 2010. Gasoline, diesel and ethanol biofuels from grasses and plants, ISBN 978-0-521-76399-8, Cambridge University Press, New York.
- Richard Freudenberger. 2009. Alcohol Fuel: Making and Using Ethanol as a Renewable Fuel, ISBN 978-0-86571-626-1, New Society Publishers, Gabriola Island.
- Gerardi, Michael H., 2003. The Microbiology of Anaerobic Digesters, ISBN 0-471-20693-8, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.
- Ogejo J., Wen Z., Ignosh J., Bendfeldt E., Collins E. 2009. Biomethane Technology.
- van Buren, A. 1979. A Chinese Biogas Manual, ISBN 0 903031 65 5.
- Ward A., Hobbs P., Holliman P., Jones D. 2008. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology* 99, 7928 – 7940.
- Verma S. 2002. Anaerobic Digestion of Biodegradable Organics in Municipal Solid Wastes. Columbia University.
- Direcção Geral de Energia (DGE). 2000. Guia técnico do biogás CCE – Centro para a conservação de energia, Alós
- Silva, A.S., Inoue, H., Endo, T., Yano, S., Bon, E.P., 2010. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentational. *Bioresource Technology* 101, 7402–7409.
- Yamashita, Y., Shono, M., Sasaki, C., Nakamura, Y., 2010. Alkaline peroxide pretreatment for efficient enzymatic saccharification of bamboo. *Carbohydrate Polymers* 79, 914–920.
- Mosier, N., Wyman, Ch., Dale, B.E., Elander, R., Lee, Y.Y., Holtzaple, M., Ladisch, M., 2004. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*
- Xu, J., Cheng, J.J., Sharma-Shivappa, R.R., Burns, J.C., 2010. Sodium hydroxide pretreatment of switchgrass for ethanol production. *Energy Fuels* 24, 2113–2119.

- Shen, F., Saddler, J.N., Liu, R., Lin, L., Deng, S., Zhang, Y., Yang, G., Xiao, H., Li, Y., 2011. Evaluation of steam pretreatment on sweet sorghum bagasse of enzymatic hydrolysis and bioethanol production. *Carbohydrate Polymers* 86, 1542–1548.
- Mishima, D., Tateda, M., Ike, M., Fujita, M., 2006. Comparative study on chemical pretreatments to accelerate enzymatic hydrolysis of aquatic macrophyte biomass used in water purification processes. *Bioresour. Technol.* 97, 2166–2172.
- Mais, U., Esteghlalian, A.R., Saddler, J.N., Mansfield, S.D., 2002. Enhancing the enzymatic hydrolysis of cellulosic materials using simultaneous ball milling. *Appl. Biochem. Biotech.* 98, 815–832.
- Gerhardt M., Pelenc V., Bäuml M. 2007. Application of hydrolytic enzymes in the agricultural biogas production: Results from practical applications in Germany, *Biotechnology Journal* 1481-1484
- Field, J., Sierra Álvarez, R., Lettinga, G. 1988. Ensayos anaerobios. 4º Seminario de Depuración anaerobia de aguas residuales. Ed. Valladolid Universidad, Secretariado de Publicaciones, Valladolid, pp. 52-80.
- Soto, M., Méndez, R., Lema, J.M. 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Wat. Res.*, 27(8), 1361-1376.)
- Ye Chen, Jay J. Cheng, Kurt S. Creamer. 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review, *Bioresource Technology* 99, 4044-4064.
- Gayh, U., Stooß, A., Behrendt, J. and Otterpohl, R. (2010): Desulphurisation of Biogas - Analysis, evaluation and optimisation. Third International Symposium on Energy from Biomass and Waste, Venice.
- Zicari, S. M. 2003. Removal of Hydrogen Sulfide from Biogas using Cow-Manure Compost, Cornell University
- Amirfakhri, J., Vossoughi, M. and Soltanieh, M. (2006). Assessment of desulfurization of natural gas by chemoautotrophic bacteria in an anaerobic baffled reactor (ABR). *Chemical Engineering and Processing*, 45, 232-237.
- Sublette, K. L. and Sylvester, N. D. (1987a). Oxidation of hydrogen sulfide by *Thiobacillus denitrificans*: desulfurization of natural gas. *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 249–257.
- Braun, R.; Weiland, P. & Wellinger, A. 2009. Biogas from Energy Crop Digestion, IEA Bioenergy, Task 37
- Lehtomäki, A. 2006. Biogas Production from Energy Crops and Crop Residues, University of Jyväskylä, ISBN 951-39-2559-5.
- P. Kaparaju, S. Luostarinen, E. Kalmari, J. Kalmari e J. Rintala. 2002. Co-digestion of energy crops and industrial confectionery by-products with cow manure: batch scale and farm scale evaluation, *Water Science & Technology* Vol. 45 N°10 pp 275-280.
- Grooms, L. 2008. Sweet Energy Crop, *Biofuels Journal* Mar/Apr.
- Isroi, Millati R., Syamsiah S., Niklasson C., Chayanto M., Lundquist K., Taherzadeh M. 2011. Biological Pretreatment of Lignocelluloses with White-Rot Fungi and its Applications: A Review. *BioResources* 6, 5224-5259



## **7. Anexos**

### **7.1 Pré-tratamento Enzimático - Protocolo**

Os enzimas (Celluclast 1.5L e Novozyme 188 da empresa Novozymes) utilizados para o pré-tratamento têm actividades celulolíticas e hemicelulolíticas, que indicava as seguintes doses:

- Celluclast 1.5L - 0,5 mL/g sólidos (base matéria seca)
- Novozyme 188 - 0,1 mL/g sólidos (base matéria seca)

A incubação, com o substrato, foi efectuada a 50 °C em pH 5,5 de tampão citrato de sódio ( $C_6H_5Na_3O_7$ ) 0,1 M por 48-72 horas. A duração efectiva foi de aproximadamente 50 horas.

De forma a cobrir o completamente o substrato foram necessários 200 ml de solução tampão por reactor.

### **7.2 Determinações analíticas**

Todas as determinações analíticas foram efectuadas segundo os métodos de uso corrente no laboratório do LNEG, baseados no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Association *et al.*, 1999).

As amostras de gás foram analisadas num Cromatógrafo de fase gasosa (Varian 3380), equipado com um Detector de Condutividade Térmica (TCD). Utilizaram-se duas colunas, uma de Porapak S e outra de Molecular Sieves, para a determinação quantitativa da composição do gás. O método escolhido foi o do Padrão Externo. Os gases portadores foram o hélio e o azoto.

#### **7.2.1 pH**

Para a medição do pH utilizou-se um medidor com um eléctrodo de vidro. Este método consiste em medir a diferença de potencial, numa solução, entre um eléctrodo de vidro e um eléctrodo de referência.

### 7.2.2 Sólidos Totais (ST) e Sólidos Voláteis (SV)

Amostras de peso conhecido do substrato, em cadinhos previamente tarados, são secos até peso constante, numa estufa a 105 °C. Assim, o teor de Sólidos Totais (ST) pode ser calculado da seguinte forma:

$$ST(\%) = \frac{m3 - m1}{m2 - m1} \times 100 \quad (1)$$

Sendo que:

m1 – Peso do cadinho vazio;

m2 – Peso do cadinho com amostra;

m3 – Peso do cadinho com amostra após secagem na estufa.

De forma a determinar o teor de Sólidos Voláteis (SV) faz-se a incineração, numa mufla a 550 °C, da resultante amostra seca até esta se encontrar completamente calcinada. Efectua-se a pesagem da cinza resultante e utiliza-se a seguinte formula:

$$SV(\%) = \frac{m3 - m4}{m2 - m1} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

m1 – Peso do cadinho vazio;

m2 – Peso do cadinho com amostra;

m3 – Peso do cadinho com amostra após secagem na estufa;

m4 – Peso do cadinho com amostra após calcinação na mufla.

### 7.2.3 Sólidos Suspensos Totais (SST) e Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)

Foi utilizado o método gravimétrico para quantificar os teores de Sólidos Suspensos Totais (SST) e de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV). Este método consiste em filtrar a amostra num filtro de Nitrato de Celulose com porosidade de 0,45 µm previamente tarado e secar o filtrado numa estufa a 105°C.

Através do aumento de peso do filtro calcula-se os SST:

$$SST(g/l) = \frac{m2 - m1}{V} \quad (3)$$

Sendo que:

m1 – Peso (g) do filtro seco;

m2 – Peso (g) do filtro com amostra filtrada;

V – Volume (l) da amostra passada pelo filtro.

De forma a determinar o teor de Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) faz-se a incineração, numa mufla a 550 °C, da resultante amostra seca até esta se encontrar completamente calcinada. Efectua-se a pesagem do filtro com a cinza resultante e utiliza-se a seguinte formula:

$$SSV(g/l) = \frac{m2 - m3}{V} \quad (4)$$

Em que:

m2 – Peso (g) do filtro com amostra filtrada;

m3 – Peso (g) do filtro com amostra calcinada;

V – Volume (l) da amostra passada pelo filtro.

### 7.2.4 Carência Química de Oxigénio (CQO) Total

Para a determinação da Carência Química de Oxigénio (CQO) foi o método volumétrico de oxidação por Dicromato de Potássio. Neste processo, a amostra é digerida numa quantidade conhecida de Dicromato de Potássio (0,25 N), na presença de Sulfato de Mercúrio, a 150 °C durante 120 minutos, num meio acidificado por Ácido Sulfúrico concentrado (98-99%). Durante o processo de digestão, parte do Dicromato de Potássio é reduzido pela matéria orgânica presente na amostra. Após a digestão, procede-se à titulação do excesso de Dicromato de Potássio remanescente na amostra, utilizando Sulfato de Ferro Amoniacal (0,25 N). Através da quantidade de Dicromato de Potássio que foi reduzido é possível calcular a CQO da seguinte forma:

$$CQO(mgO_2/l) = \frac{8000x(V0 - V1)xT}{V} \quad (5)$$

Sendo que:

V1 – Volume (ml) da solução de Sulfato de Ferro Amoniacal utilizada para titular a amostra;

V0 – Volume (ml) da solução de Sulfato de Ferro Amoniacal utilizada para titular o ensaio em branco;

V – Volume (ml) da amostra;

Factor 8000 – Massa molar (mg/l) de ½ de O2 depois de aplicado o factor de correcção;

T – Título, expresso em normalidade, da solução de Sulfato de Ferro Amoniacal calculado através da equação 2:

$$Título(N) = \frac{NxV_{DP}}{V_{tit}} \quad (6)$$

Sendo que:

N – Normalidade do Dicromato de Potássio (neste caso, 0,25 N);

V<sub>DP</sub> – Volume (ml) utilizado de Dicromato de Potássio;

V<sub>tit</sub> – Volume (ml) da solução de Sulfato de Ferro Amoniacal utilizada na titulação.

### 7.2.5 Azoto Total (Kjeldahl)

O método de Kjeldahl para a determinação do azoto total consiste na digestão da amostra em Ácido Sulfúrico concentrado (98-99%), uma subsequente destilação com corrente de vapor de forma a realizar-se a retenção do Azoto numa solução de Ácido Bórico. Finalmente efectua-se uma volumetria por neutralização titulando-se com Ácido Sulfúrico diluído. Assim é possível calcular a concentração de Azoto total na amostra:

$$N_{total}(mg/l) = \frac{(V_{titA} - V_{titB}) \times 280}{V_A} \quad (7)$$

Em que:

$V_{titA}$  – Volume de Ácido Sulfúrico gasto na titulação da amostra;

$V_{titB}$  – Volume de Ácido Sulfúrico gasto na titulação do ensaio branco;

$V_A$  – Volume da amostra;

Factor 280 – Factor de correcção, 1 ml de de Ácido Sulfúrico (0,02 N) corresponde a 280 µg de Azoto.

### 7.2.6 Azoto Amoniacal

Para determinar a concentração de Azoto Amoniacal efectua-se uma destilação com corrente de vapor a uma amostra diluída fazendo-se a retenção do Azoto numa solução de Ácido Bórico. De seguida executa-se uma volumetria por neutralização titulando-se com Ácido Sulfúrico diluído. Assim é possível calcular a concentração de Azoto Amoniacal na amostra:

$$N_{NH4}(mg/l) = \frac{(V_{titA} - V_{titB}) \times 280}{V_A} \quad (8)$$

Sendo que:

$V_{titA}$  – Volume de Ácido Sulfúrico gasto na titulação da amostra;

$V_{titB}$  – Volume de Ácido Sulfúrico gasto na titulação do ensaio branco;

$V_A$  – Volume da amostra;

Factor 280 – Factor de correcção, 1 ml de de Ácido Sulfúrico (0,02 N) corresponde a 280 µg de Azoto.

### 7.2.7 Ácidos Gordos Voláteis (AGV)

As concentrações de ácidos gordos voláteis (acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico) foram determinadas por cromatografia em fase gasosa utilizando um cromatógrafo Hewlett Packard (modelo 5890) equipado com um coluna de enchimento nas condições apresentadas na tabela 2.

Tabela 1 – Condições experimentais - análise dos ácidos gordos voláteis.

Tipo de cromatografia	Gás/líquido
Método	Padrão interno (ácido trimetilacético 1%)
Gases	Azoto com um caudal de 24 ml/min (arraste)
Coluna	80/120 Carbopack B-DA, 4% Carbowax 20 M, 1% Trimesic acid, 2 m × 2 mm ID
Temperaturas	Coluna a 170 °C Injector a 175 °C Detector FID a 250 °C
Volume da amostra	aproximadamente 0,5 µl
Integrador	Shimadzu modelo C-R5A